



①⑨ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑫ Off nl gungsschrift  
⑩ DE 198 10 879 A 1

⑳ Aktenzeichen: 198 10 879.6  
㉑ Anmeldetag: 13. 3. 98  
㉒ Offenlegungstag: 16. 9. 99

㉓ Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**C 12 N 9/12**  
C 12 N 15/54  
C 07 H 21/04  
C 12 N 15/63  
C 12 N 1/00  
C 12 N 5/10  
C 12 P 19/34  
C 12 Q 1/68  
// C12N 15/70(C12N  
1/21,C12R 1:19)

DE 198 10 879 A 1

㉔ Anmelder:

Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, DE;  
Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH  
(GBF), 38124 Braunschweig, DE

㉕ Erfinder:

Villbrandt, Britta, Dipl.-Biol. Dr., 38102  
Braunschweig, DE; Schomburg, Dietmar, Prof. Dr.,  
50374 Erftstadt, DE; Frey, Bruno, Dipl.-Biol. Dr.,  
82377 Penzberg, DE; Sobek, Harald, Dipl.-Biol. Dr.,  
82377 Penzberg, DE; Ankenbauer, Waltraud,  
Dipl.-Chem. Dr., 82377 Penzberg, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

㉖ Polymerasenchimären

㉗ Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Polyme-  
rasenchimären, die aus Aminosäurefragmenten, die Do-  
mänen repräsentieren, bestehen und die - im Hinblick auf  
eine bestimmte Verwendung - vorteilhafte Eigenschaften  
von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich verei-  
nen. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß  
die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der  
Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten zeigen.  
Weiterhin ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein  
Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Chi-  
mären sowie die Verwendung dieser Chimären bei der  
Synthese von Nukleinsäuren z. B. während der Polyme-  
rase-Ketten-Reaktion. Ein weiterer Gegenstand der vorlie-  
genden Erfindung ist ein Kit, der die erfindungsgemäßen  
Polymerasenchimären enthält.

DE 198 10 879 A 1

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Polymerasenchimären, die aus Aminosäurefragmenten, die Domänen repräsentieren, bestehen und die – im Hinblick auf eine bestimmte Verwendung – vorteilhafte Eigenschaften von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich vereinen. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten zeigen. Weiterhin ist Gegenstand der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Chimären sowie die Verwendung dieser Chimären bei der Synthese von Nukleinsäuren z. B. während der Polymerase-Ketten-Reaktion. Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit, der die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären enthält.

Nach Braithwaite, D.K. und Ito, J. (1993) Nucl. Acids Res. 21, 787–802 werden die DNA Polymerasen nach den Übereinstimmungen in ihren Aminosäuresequenzen in drei Hauptfamilien mit Unterklassen eingeteilt. Eine Zusammenfassung der gefundenen Motive und konservierten Aminosäuren geben Joyce, C.M. und Steitz; Tk (1994) Annu. Rev. Biochem. 63, 777–822. In Prokaryoten werden hauptsächlich drei Polymerasen unterschieden: Polymerase I, II und III. Diese Polymerasen unterscheiden sich untereinander bezüglich ihrer Funktion in der Zelle und bezüglich ihrer Eigenschaften. Die DNA Polymerase I gilt als Reparaturenzym, besitzt häufig sowohl 5'-3'- als auch 3'-5'-Exonukleaseaktivität. Polymerase II scheint die DNA Synthese zu erleichtern, die von einem beschädigten Matrizenstrang ausgeht und bewahrt daher Mutationen. Die Polymerase III ist das Replikationsenzym der Zelle, sie synthetisiert Nukleotide mit hoher Geschwindigkeit (ca. 30.000 per Minute) und gilt als sehr prozessiv. Polymerase III besitzt keine 5'-3'-Exonukleaseaktivität. Andere Eigenschaften von Polymerasen werden bedingt durch ihre Herkunft wie z. B. die Thermostabilität oder auch die Prozessivität.

Je nach Anwendung sind bestimmte Eigenschaften von Polymerasen wünschenswert. Für die PCR z. B. werden thermostabile, fidele – d. h. Polymerasen mit proofreading-Aktivität – prozessive und schnell synthetisierende Polymerasen bevorzugt. Bei der Sequenzierung werden Enzyme bevorzugt, die wenig zwischen Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden diskriminieren. Die Proofreading-Aktivität der Polymerasen hingegen, d. h. 3'-5'-Exonukleaseaktivität, ist bei der Sequenzierung nicht wünschenswert. Für manche Anwendungen, z. B. PCR, ist es wünschenswert, wenn die Polymerase keine oder wenig 5'-3'-Exonukleaseaktivität (5'-Nukleaseaktivität) aufweist.

Polymerasen können sich weiterhin unterscheiden in ihrer Fähigkeit RNA als Template zu akzeptieren, d. h. bezüglich ihrer Reversen Transkriptasen (RT)-Aktivität. Die RT-Aktivität kann von der Gegenwart an Mangan- und/oder Magnesium-Ionen abhängig sein. Oftmals ist es wünschenswert, wenn die RT-Aktivität der Polymerase von Mangan-Ionen unabhängig ist, weil die Lesegenauigkeit der Polymerase in Gegenwart von Mangan-Ionen sinkt. Polymerasen unterscheiden sich weiterhin in ihrer Prozessivität, die ebenfalls eine für viele Anwendungen wünschenswerte Eigenschaft darstellt.

Es besteht daher das Bedürfnis, Polymerasen bezüglich ihrer Eigenschaften im Hinblick auf eine bestimmte Anwendung zu optimieren. Dies wurde in der Vergangenheit oftmals durch das Einführen von Mutationen oder durch Deletion von Funktionen der Polymerasen erreicht.

So wurde z. B. das Ausschalten der 5'-3'-Exonukleaseaktivität sowohl durch das Einführen von Mutationen (Merkens, L. S. (1995) Biochem. Biophys. Acta 1264, 243–248) als auch durch Verkürzung erreicht (Jacobsen, H. (1974) Eur. J. Biochem. 45, 623–627; Barnes, W. M. (1992) Gene 112, 29–35). Die Diskriminierungsfähigkeit der Polymerasen gegenüber Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden wurde durch das Einführen von Punktmutationen herabgesetzt (Tabor s. und Richardson, C. C. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. 92, 6339–6343). Tabor und Richardson beschreiben die Konstruktion von Active-site-Hybriden.

Die Aufgabe, Polymerasen mit optimierten Eigenschaften bereitzustellen, wurde durch die vorliegende Erfindung erstmals durch das Herstellen von Polymerasenchimären durch den Austausch strukturell und funktionell voneinander unabhängiger Domänen gelöst. Als Domäne im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Bereiche zu verstehen, die alle essentiellen Zentren bzw. alle funktionell wichtigen Aminosäuren enthalten, so daß die Domäne ihre Funktion im wesentlichen behält. Es können daher auch nur Teile, d. h. funktionierende Fragmente von Domänen ausgetauscht werden. So können diese Domänen im Sinne der vorliegenden Erfindung als funktionelle Aminosäurefragmente bezeichnet werden. Die Chimäre kann darüber hinaus durch Mutationen oder Verkürzungen weiter verändert werden. Falls es vorteilhaft erscheint, können in die Chimäre Mutationen eingeführt werden, die ihre Eigenschaften im Hinblick auf die jeweilige Anwendung weiter optimieren. So können beispielsweise Mutationen eingeführt werden, die die Diskriminierungsfähigkeit der Polymerasen gegenüber Dideoxy- und Deoxy-Nukleotiden herabsetzt. Oder es können durch die Einführung von Mutationen oder durch Verkürzung erwünschte Eigenschaften wie z. B. die Prozessivität verstärkt oder eingeführt werden. Es können aber auch durch die Einführung von Mutationen oder durch Verkürzungen unerwünschte Eigenschaften ausgeschaltet werden, z. B. die 5'-Nukleaseaktivität.

Und somit sind Polymerasenchimären Gegenstand der vorliegenden Erfindung, die – im Hinblick auf eine bestimmte Verwendung – vorteilhafte Eigenschaften von natürlich vorkommenden Polymerasen in sich vereinen. Die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären bestehen aus funktionellen Aminosäurefragmenten unterschiedlicher Enzyme, die vorzugsweise Domänen unterschiedlicher Enzyme repräsentieren. Überraschenderweise konnte gezeigt werden, daß die Domänen aus den unterschiedlichen Enzymen in der Chimäre aktiv sind und ein kooperatives Verhalten der Domänen untereinander zeigen. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind weiterhin generelle Verfahren zur Herstellung von Polymerasenchimären mit optimierten Eigenschaften. Durch diese erfindungsgemäßen Verfahren werden somit das Design einer Chimären aus einer beliebigen Kombinationen von Enzymen möglich, indem Domänen ausgetauscht werden. Weiterhin ist bevorzugt, daß die Wechselwirkungen in den Kontaktstellen der Domänen durch verschiedene Verfahren noch weiter aufeinander abgestimmt werden. Dadurch kann beispielsweise die Thermostabilität der Chimären erhöht werden. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Kit zur Synthese von Nukleinsäuren, der eine erfindungsgemäße Chimäre enthält.

Für die PCR werden in der Praxis zunehmend thermostabile DNA Polymerasen mit Korrekturlesefunktion eingesetzt. Zur Amplifikation langer DNA Moleküle hat sich insbesondere das Einsetzen von Mischungen aus Taq Polymerase- und

thermostabiler Korrekturlese-DNA Polymerase (wie Pfu, Two, Vent Polymerase) bewährt. Es war daher weiterhin Gegenstand der vorliegenden Erfindung, die hohe Prozessivität und Thermostabilität der Taq Polymerase mit der 3'-5'-Exonukleaseaktivität einer anderen DNA Polymerase in einem Enzym zu vereinen. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher insbesondere thermostabile Polymerasenchimäre, die eine Prozessivität aufweisen, die mindestens der der Taq Polymerase entspricht, sowie eine geringen Fehlerrate beim Einbau der Nukleotide in die Polymerkette während der Amplifikation aufweisen durch das Vorhandensein einer 3'-5'-Exonuklease-Aktivität (Proofreading-Aktivität). Durch die Kombination dieser beiden Eigenschaften kann beispielsweise eine Chimäre generiert werden, die in der Lage ist, lange PCR Produkte zu machen, d. h. Nukleinsäurefragmente die größer sind als 2 kb. Die erfindungsgemäße Chimäre eignet sich ebenfalls für die Vervielfältigung kürzerer Fragmente.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher insbesondere eine Polymerasenchimäre, die zusammengesetzt ist aus funktionellen Aminosäurefragmenten von zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die erste oder die zweite der Polymerasen 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist und die Polymerasenchimäre sowohl 5'-3'-Polymeraseaktivität als auch 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist. Die Polymerasen können natürlich vorkommende oder rekombinante Polymerasen sein. Die erfindungsgemäße Polymerasenchimäre kann aus funktionellen Aminosäurefragmenten von zwei oder mehr unterschiedlichen Polymerasen zusammengesetzt sein. Die erfindungsgemäße Polymerasenchimäre kann aus zwei oder mehreren funktionellen Aminosäurefragmenten der unterschiedlichen Polymerasen zusammengesetzt sein. Die Aminosäuresequenz des Fragmentes kann der natürlich vorkommenden Sequenz der Polymerase oder einer durch Mutationen veränderten Sequenz entsprechen.

Die Aminosäurefragmente, aus denen die Polymerasenchimäre zusammengesetzt ist, entsprechen bevorzugterweise jeweils funktionalen Polymerasendomänen der ersten oder zweiten Polymerase. Eine funktionale Polymerasendomäne im Sinne der vorliegenden Erfindung ist ein Bereich, der alle für die Aktivität essentiellen Aminosäuren beinhaltet.

Bevorzugt ist weiterhin, daß ein Teil der Aminosäurefragmente der Polymerasenchimären einem Teil der Aminosäuresequenz der Taq-Polymerase entspricht. Die Polymerase, deren 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne bzw. Aminosäurefragment in die Chimäre eingebaut wurde, kann beispielsweise eine Pol-I-Typ-Polymerase oder auch eine Pol-II-Typ-Polymerase sein. Vertreter der Pol-I-Typ-Polymerase mit 3'-5'-Exonukleaseaktivität sind z. B. *Escherichia coli* Polymerase I (Ec. I), *Salmonella* Polymerase I, *Bacillus* Polymerase I, *Thermosiphon* Polymerase I sowie die *Thermatoga neapolitana* Polymerase (Tne). Vertreter der Pol-II-Typ-Polymerase mit 3'-5'-Exonukleaseaktivität sind z. B. die *Pyrococcus woesei* Polymerase (Pwo), *Pyrococcus furiosus* Polymerase (Pfu), *Thermococcus litoralis* Polymerase (Tli), *Pyrodictum abyssi*.

Die Taq DNA Polymerase aus *Thermus aquaticus* (Taq Polymerase), die *Escherichia coli* DNA Polymerase I (E. coli polI) und die *Thermotoga neapolitana* DNA Polymerase (Tne Polymerase) sind bakterielle DNA Polymerasen der Familie A. Es sind DNA Polymerasen vom polI-Typ, da die verschiedenen enzymatischen Aktivitäten in relativ gleicher Weise in verschiedenen Domänen lokalisiert sind wie bei der E. coli polI. Die *Pyrococcus woesei* DNA Polymerase (Pwo Polymerase) ist, wie die *Thermococcus litoralis* DNA Polymerase (Vent™ Polymerase) und die *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase (Pfu Polymerase), eine archaebakterielle DNA Polymerase der Familie B.

Die Taq Polymerase ist beschrieben von Chien, A. et al. (1976) J. Bacteriol. 127, 1550-1557, Kaledin, A.S. et al. (1980) Biokhimiya 45, 644-651 und Lawyer, F.C. et al. (1989) J. Biol. Chem. 264, 6427-6437. Ursprünglich wurde sie aus dem thermophilen Eubakterium *Thermus aquaticus* isoliert, später in E. coli kloniert. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von 94 kDa und ist als Monomer aktiv. Die Taq Polymerase ist geeignet zum Einsatz in der Polymerasekettenreaktion (PCR), da sie eine hohe Thermostabilität (Halbwertszeit von 40 Minuten bei 95°C/5 Minuten bei 100°C) und eine hoch prozessive 5'-3'-DNA-Polymerase (Polymerisationsrate: 75 Nukleotide pro Sekunde) aufweist. Neben der Polymeraseaktivität wurde von Longley et al. (1990) Nucl. Acids Res. 18, 7317-7322 eine 5'-Nukleaseaktivität nachgewiesen. Das Enzym zeigt keine 3'-5'-Exonukleaseaktivität, so daß beim Einbau der vier Desoxyribonukleotidtriphosphate zur sukzessiven Verlängerung von Polynukleotidketten Fehler entstehen, die bei der Genamplifikation stören (Fehlerrate:  $2 \times 10^{-4}$  Fehler/Base, Cha, R. S. und Thilly, W. G. (1993) PCR Methods Applic. 3, 18-29). Die Tertiärstruktur der Taq Polymerase ist seit 1995 bekannt (Kim et al., 1995, Korolev et al., 1995).

Die E. coli polI ist beschrieben in Kornberg, A. und Baker, T. A. (1992) DNA Replication, 2. Aufl., Freeman, New York, 113-165. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von 103 kDa und ist als Monomer aktiv. Die E. coli polI besitzt 5'-Nuklease- und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität. Im Gegensatz zur Taq Polymerase besitzt sie zusätzlich eine 3'-5'-Exonukleaseaktivität als Korrekturlesefunktion. Die E. coli polI und deren Klenow Fragment (Jacobsen, H. et al. (1974) Eur. J. Biochem. 45, 623-627) wurden vor der Einführung der Taq Polymerase für die PCR eingesetzt. Aufgrund ihrer geringen Thermostabilität sind sie jedoch weniger gut geeignet, da sie jeden Zyklus neu zugesetzt werden müssen. Die Tertiärstruktur des Klenow Fragmentes der E. coli polI ist seit 1983 bekannt (Brick, P. et al. (1983) J. Mol. Biol. 166, 453-456, Ollis, D.L. et al. (1985) Nature 313, 762-766 und Beese, L.S. et al. (1993) Science 260, 352-355).

Die Tne Polymerase wurde aus dem thermophilen Eubakterium *Thermotoga neapolitana* isoliert und später in E. coli kloniert. Die Aminosäuresequenz der Tne Polymerase ist der *Thermotoga maritima* DNA Polymerase (UITma™ Polymerase) ähnlich (persönliche Auskunft Dr. B. Frey). Sie weist hohe Thermostabilität, 5'-Nukleaseaktivität, 3'-5'-Exonukleaseaktivität und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität auf. Ein Nachteil ist die geringere Polymerisationsrate verglichen mit der der Taq Polymerase. Die in der Aminosäuresequenz ähnliche UITma™ Polymerase wird für die PCR verwendet, wenn hohe Genauigkeit benötigt wird. Von der Struktur der Tne Polymerase ist bisher nur die Aminosäuresequenz bekannt (Boehringer Mannheim). Das Enzym ist jedoch homolog zur E. coli polI, so daß, obwohl die Tertiärstruktur nicht bekannt ist, die Möglichkeit des Homologiemodelling besteht.

Die Pfu Polymerase wurde aus dem hyperthermophilen, marinen Archaeobakterium *Pyrococcus furiosus* isoliert. Sie weist hohe Thermostabilität (95% Aktivität nach einer Stunde bei 95°C), 3'-5'-Exonukleaseaktivität und 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität auf (Lundberg, K. S. et al. (1991) Gene 198, 1-6). Die Genauigkeit der DNA-Synthese ist ca. zehnmal höher als bei der Taq Polymerase. Sie wird für die PCR verwendet, wenn hohe Genauigkeit benötigt wird. Von der Struktur ist bisher nur die Aminosäuresequenz bekannt.

Die Pwo Polymerase (PCR Applications Manual (1995), Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, 28-32) wurde

ursprünglich aus dem hyperthermophilen Archaeobakterium *Pyrococcus woesei* isoliert und später in *E. coli* kloniert. Das Enzym hat ein Molekulargewicht von etwa 90 kDa und ist als Monomer aktiv. Die Pwo Polymerase besitzt eine höhere Thermostabilität als die Taq Polymerase (Halbwertszeit > 2 Stunden bei 100°C), eine hoch prozessive 5'-3'-DNA-Polymeraseaktivität und eine hohe 3'-5'-Exonukleaseaktivität, wodurch die Genauigkeit der DNA-Synthese erhöht wird. Das Enzym hat keine 5'-Nukleaseaktivität. Die Polymerisationsrate (30 Nukleotide pro Sekunde) ist geringer als bei der Taq Polymerase. Das Enzym wird in der PCR eingesetzt, wenn hohe Genauigkeit gefordert ist. Die Genauigkeit der DNA-Synthese ist mehr als 10 mal höher als bei Verwendung der Taq Polymerase.

In die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimären können weiterhin Histidin-tags oder andere Reinigungshilfen für die verbesserte Aufreinigung eingebaut sein.

Zum Einfügen einer 3'-5'-Exonukleaseaktivität in die Taq Polymerase gibt es hauptsächlich vier Verfahren, die ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind.

#### 1. Das Einfügen des 3'-5'-Exonukleasebereiches einer anderen DNA Polymerase durch Austausch eines Molekülbereichs der Taq Polymerase

Dieser Ansatz ist insbesondere geeignet, da die Taq Polymerase homolog zur *E. coli* polI ist, die aus funktionell und strukturell voneinander unabhängigen Domänen besteht (Joyce, C.M., und Steitz, T.A. (1987) *TIBS*, 12, 288-292) und als Modell für andere PNA Polymerasen dienen kann (Joyce, C.M. (1991) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1, 123-129). Geeignet für den Austausch sind DNA Polymerasen, bei denen eine 3'-5'-Exonukleaseaktivität nachgewiesen ist, deren DNA-Sequenz bekannt ist und das für die 3'-5'-Exonukleaseaktivität kodierende Gen zugänglich ist. Für ein rationales Proteindesign anhand von Modellstrukturen ist es zusätzlich von Vorteil, daß der 3'-5'-Exonukleasebereich und der Polymerasebereich zur *E. coli* polI homolog ist. Der 3'-5'-Exonukleasebereich sollte sich vorzugsweise gut in die Struktur der *E. coli* polI einfügen und an den Polymerasebereich der Taq Polymerase anfügen. Eine aufgeklärte Tertiärstruktur mit zugänglichen Strukturdaten sowie hohe Thermostabilität des Proteins sind weitere Vorteile.

Folgende DNA Polymerasen sind daher beispielsweise geeignet:

##### a. *E. coli* polI

Die *E. coli* polI erfüllt, bis auf die Thermostabilität, alle oben aufgeführten Bedingungen. Die Tertiärstruktur des Klenow Fragmentes ist in der Brookhavendatenbank zugänglich und sie gehört, wie die Taq Polymerase, zur Familie A der DNA Polymerasen. Die Identität in der Aminosäuresequenz beträgt 32%. Bei Berücksichtigung der bekannten Domänenstruktur finden sich die größten Übereinstimmungen im N-terminalen und im C-terminalen Bereich der beiden Proteine (32% Identität in den 5'-Nukleasedomänen, 49% Identität in den Polymerasedomänen). Im Bereich der 3'-5'-Exonukleasedomäne weist die kürzere Taq Polymerase mehrere Deletionen auf (14% Identität in 3'-5'-Exonukleasedomäne und Zwischendomäne). Da die *E. coli* polI thermolabil ist und die Wechselwirkungen an der Grenzfläche zwischen den beiden Domänen im chimären Protein nicht mehr optimal sind, ist es wahrscheinlich, daß auch die Proteinchimäre geringerer Thermostabilität als die Taq Polymerase aufweist. Diese kann durch nachträgliche Modifizierung von Aminosäuren an der Grenzfläche behoben werden.

##### b. Thermostabile DNA Polymerasen

Von den thermostabilen DNA Polymerasen mit 3'-5'-Exonuklease, die heute zur PCR eingesetzt werden, scheinen die Pwo Polymerase, die Pfu Polymerase, die Vent™ Polymerase, die Tne Polymerase und die UTM™ Polymerase zur Kombination mit der Taq DNA Polymerase geeignet. Die Gene sind (über die Firma Boehringer Mannheim) zugänglich von der Pwo Polymerase und der Tne Polymerase. Die Pfu Polymerase ist erhältlich von Stratagene Inc. Für ein rationales Proteindesign ist die Tne Polymerase aufgrund ihrer Homologie zur Taq Polymerase und *E. coli* polI gut geeignet. Bei der Verwendung der Pfu Polymerase sind Planungen nur anhand von Aminosäuresequenzalignments unter Berücksichtigung bekannter konservierter, für die Funktion essentieller Aminosäuren und Motive möglich.

#### 2. Die Modifikation der Taq DNA Polymerase in der Zwischendomäne

Zum Einfügen einer 3'-5'-Exonukleaseaktivität müssen alle für die Aktivität essentiellen Aminosäuren in die Struktur eingefügt werden. Nach heutigem Kenntnisstand betrifft das besonders die drei Motive Exo I, Exo II und Exo III. Die essentiellen Motive müssen außerdem in geeigneter Art und Weise verknüpft werden, um in die für die Katalyse notwendige räumliche Lage gebracht zu werden.

Die Veränderung der Taq DNA Polymerase im Polymerasebereich ist ebenfalls möglich. Auch ein de novo Design von Polymerasen ist prinzipiell denkbar.

Die erfindungsgemäßen Chimären können weiterhin optimiert werden durch:

1. Entfernung der 5'-Nukleasedomäne (möglich auch proteolytisch) oder nachträgliche Inaktivierung der 5'-Nukleaseaktivität (beschrieben in Merckens, L. S. (1995) *Biochem. Biophys. Acta* 1264, 243-248)
2. Modifikation durch Punktmutationen oder Fragmentaustausch
3. Optimierung der Strukturen an den Grenzflächen der Chimären
4. Optimierung durch random Mutagenese und/oder random Rekombination mit anderen Polymerasegenen (molekulare Evolution).

Beispiele für erfindungsgemäße Polymerasenchimären sind die folgenden:

- Taq DNA Polymerase (M1-V307) E. coli DNA Polymerase (D355-D501) Taq DNA Polymerase (A406-E832)
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-K511) Taq DNA Polymerase (L416-E832)
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-H519) Taq DNA Polymerase (E424-E832); Punktmutation A643G; Ile 455 Val SEQ ID No.: 1
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-V536) Taq DNA Polymerase (L441-E832) 5
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-G544) Taq DNA Polymerase (V449-E832); SEQ ID No.: 2
- Taq DNA Polymerase (M1-P302) E. coli DNA Polymerase (K348-S365) Taq DNA Polymerase (A319-E347) E. coli DNA Poly (N450-T505) Taq DNA Polymerase (E410-E4832);
- Taq DNA Polymerase (M1-V307) Tne DNA Polymerase (D323-D468) Taq DNA Polymerase (A406-E832); 10
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-1478) Taq DNA Polymerase (L416-E832)
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-E485) Taq DNA Polymerase (E424-E832); stille Mutation A1449C SEQ ID No.: 3
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-V502) Taq DNA Polymerase (L441-E832)
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-G510) Taq DNA Polymerase (V449-E832); stille Mutation C1767T SEQ ID No.: 4 15
- Taq DNA Polymerase (M1-P302) Tne DNA Polymerase (E316-D333) Taq DNA Polymerase (A319-E347) Tne DNA Polymerase (I381-M394) Taq DNA Polymerase (R362-L380) Tne DNA Polymerase (E415-T472) Taq DNA Polymerase (E410-E832);
- G308D/V310E/L352N/L356D/E401Y/R305D 20
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V100-R346) Taq DNA Polymerase (E424-E832)
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (H103-S334) Taq DNA Polymerase (E424-E832); SEQ ID No.: 5
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V100-F389) Taq DNA Polymerase (E424-E832)
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V106-F389) Taq DNA Polymerase (V449-E832); SEQ ID No.: 6 25
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (M1-F389) Taq DNA Polymerase (V449-E832).

Von den oben genannten Polymerasenchimären wurden die folgenden näher untersucht:

- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-H519) Taq DNA Polymerase (E424-E832); Punktmutation A643G; Ile 455 Val (Taq Ec1) SEQ ID No.: 1, 30
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-G544) Taq DNA Polymerase (V449-E832), (Taq Ec2) SEQ ID No.: 2
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-E485) Taq DNA Polymerase (E424-E832), stille Mutation A1449C (Taq Tne1) SEQ ID No.: 3 35
- Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-G510) Taq DNA Polymerase (V449-E832), stille Mutation C1767T (Taq Tne2) SEQ ID No.: 4
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V100-R346) Taq DNA Polymerase (E424-E832), (Taq Pfu1) SEQ ID No.: 5 40
- Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V100-F389) Taq DNA Polymerase (V449-E832), (Taq Pfu2) SEQ ID No.: 6.

Zur Auswahl geeigneter DNA Polymerasen werden multiple Aminosäuresequenzalignments verfügbarer Sequenzen von DNA Polymerasen und DNA bindenden Proteinen, zum Beispiel mit dem Programm GCG (Devereux et al., 1984, Nucl. Acids Res. 12, 387-395) erstellt. Zur Erstellung eines guten Alignments sind Sekundärstrukturvorhersagen, bekannte strukturbasierte Sequenzalignments, bekannte Motive und funktionell essentielle Aminosäuren sowie, phylogenetische Gesichtspunkte zu berücksichtigen. Bestehen die Proteine aus funktionell und strukturell unabhängigen Domänen, ist es sinnvoll, die Aminosäuresequenzalignments zunächst bezogen auf die einzelnen Domänen zu erstellen und erst danach zu einem vollständigen Sequenzalignments zusammenzufügen. 45 50

Werden homologe Sequenzen gefunden, deren Tertiärstruktur bekannt ist, so besteht die Möglichkeit, eine 3D-Modellstruktur aus dem homologen Protein abzuleiten. Zur Modellerstellung kann das Programm BRAGI (Reichelt und Schomburg, 1988, J. Mol. Graph. 6, 161-165) verwendet werden. Zur Energieminimierung der Strukturen einzelner Molekülbereiche sowie ganzer Moleküle kann das Programm AMBER (Weiner et al., 1984, J. Am. Chem. Soc. 106, 765-784) und zur Überprüfung der Güte des Modells, das Programm Procheck verwendet werden. Sind nur die  $\alpha$ -Koordinaten der Struktur des Ausgangsproteins erhältlich, so kann die Struktur, zum Beispiel mit dem Programm O (Jones et al., 1991, Acta Cryst. A47, 110-119), rekonstruiert werden. Des weiteren besteht die Möglichkeit, in der Proteindatenbank unzugängliche, jedoch bereits als Stereobild veröffentlichte,  $\alpha$ -Koordinaten, zu erhalten, indem das Stereobild eingescannt wird, die Koordinaten gepickt werden (zum Beispiel mit dem Programm Magick) und die z-Koordinaten berechnet werden (zum Beispiel mit dem Programm Stereo). Die Planung von Varianten kann anhand von Aminosäuresequenzalignments, anhand von 3D-Modellen oder anhand von experimentell ermittelten 3D-Strukturen erfolgen. 55 60

Die gentechnische Herstellung von Domänen austauschvarianten kann durch PCR-Mutagenese, nach der SOE-Methode (Horton et al. (1989) Gene 77, 61-68) oder nach der modifizierten Methode (siehe Schema unter Beispiele) mit Hilfe chemisch synthetisierter Oligodesoxynukleotide erfolgen. Die jeweiligen DNA-Fragmente werden auf einem Agarosegel aufgetrennt, isoliert und in den Ausgangsvektor ligiert. Als Ausgangsvektoren können für E. coli pUC Derivate mit geeigneten Promotoren verwendet werden wie pTE, pTaq, pPL, Bluescript. Die Plasmid-DNA wird in einen E. coli Stamm transformiert, zum Beispiel XL1-Blue, einige Klone werden gepickt und deren Plasmid-DNA isoliert. Möglich ist aber auch, die Verwendung anderer Stämme wie z. B. Nova Blue, BL21(DE), MC1000 etc. Selbstverständlich ist es 65

auch möglich, in anderen Organismen zu klonieren wie in Hefe-, Pflanzen-, Säugerzellen. Durch Restriktionsanalyse wird eine Vorauswahl an Klonen getroffen, deren Plasmid-DNA im modifizierten Bereich sequenziert wird.

Die Genexpression der Zielproteine kann bei vielen Plasmiden, zum Beispiel Pbtq, durch IPTG induziert werden. Bei der Herstellung vieler verschiedener Varianten ist es sinnvoll, ein universelles Aufreinigungsverfahren zu etablieren.

- 5 Hierfür ist die Affinitätschromatographie an Ni-NTA (nickel-nitrilotriacetic acid) Agarose gut geeignet, die nach dem Anhängen eines His-Tags an das Protein, zum Beispiel durch PCR, verwendet werden kann. Die Proteinkonzentrationen können mit dem Protein Assay ESL (Boehringer Mannheim) bestimmt werden und kontaminierende Nebenaktivitäten der Präparationen wie für die kommerziell erhältliche Taq Polymerase (Boehringer Mannheim) beschriebenen. Zur weiteren Charakterisierung der Varianten werden Polymerase-, Exonukleaseaktivitäts- und Thermostabilitätstests durchgeführt, sowie das jeweilige Temperaturoptimum bestimmt. Die Polymeraseaktivitäten der Chimären können in nichtradioaktiven Testsystemen, zum Beispiel durch Bestimmung, der Einbaurate von Dig-dUTP in DNase aktivierte Kalbthymus-DNA, oder in radioaktiven Testsystemen, zum Beispiel durch Bestimmung der Einbaurate von  $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ dCTP in M13 mp9 ss-DNA, ermittelt werden. Zur Bestimmung der Temperaturoptima der Polymeraseaktivität der Chimären wird die Polymerasereaktion bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt und es werden die Spezifischen Aktivitäten berechnet. Zur Bestimmung der Thermostabilitäten werden die Restaktivitäten, d. h. Prozent der Ausgangsaktivität ohne Hitzebehandlung, nach Hitzebehandlung ermittelt. Die 3'-5'-Exonukleaseaktivität kann durch den Abbau eines 5'-Dig-markierten Primers, der an einen DNA-Matrizenstrang annealt, von seinem 3'-Ende her, gezeigt werden. Die Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung (proof-reading) kann gezeigt werden, indem falschgepaarte (mismatched) 5'-Dig-markierte Primer, die in der Erkennungssequenz eines Restriktionsenzymes (z. B. Eco RI) an einen Matrizenstrang annealen, verlängert werden. Nur bei einer Korrektur der Fehlpaarung durch das Enzym, ist eine Spaltung mit dem Restriktionsenzym möglich. Die Prozessivität kann durch Einsatz der Varianten in der PCR untersucht werden. Ist das Enzym nicht thermostabil genug für den Einsatz in der PCR, so kann eine PCR beim Temperaturoptimum als Verlängerungstemperatur unter sukzessiver Enzymzugabe durchgeführt werden. Die Exonukleaseaktivität der Chimären kann in einem radioaktiven Testsystem bestimmt werden. Dazu wurde ein bestimmte Menge der Chimären-Polymerasen (i.d. Regel 2.5 U) bei unterschiedlichen Temperaturen für 4 Stunden mit markierter DNA (5  $\mu\text{g}$   $^{3}\text{H}$  DNA in den jeweiligen Testpuffern) inkubiert. Gegebenenfalls wurden dNTPs in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt (0-0.2 mM). Nach Abstoppen der Reaktion wird die Freisetzung an radioaktiv markierten Nukleotiden bestimmt.

- Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist desweiteren die DNA-Sequenz der oben beschriebenen Polymerasenchimären. Insbesondere sind Gegenstand der vorliegenden Erfindung die DNA-Sequenzen der SEQ.ID.No.: 1-6. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind desweiteren die Aminosäuresequenzen der oben beschriebenen Polymerase-Chimäre. Insbesondere sind Gegenstand der vorliegenden Erfindung die Aminosäuresequenzen der SEQ.ID.No.: 7-12.

- Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind die Vektoren, die die obengenannten DNA Sequenzen enthalten. Ein bevorzugter Vektor ist pBTaq (Plasmid Pbtq4\_oligo 67 (Villbrandt (1995), Dissertation, TU Braunschweig)). Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die E. coli Stämme, insbesondere der Stamm Escherichia coli XL1-Blue, die den Vektor, der das Polymerase-Chimäre-Gen trägt, enthalten. Folgende Stämme wurden bei der DSM hinterlegt, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig:

- E. coli XL1 Blue  $\times$  pBTaqEc1: TaqEc1 DSM No. 12 053
- 40 - E. coli XL1 Blue  $\times$  pBTaqTne1: TaqTne1 DSM No. 12 050
- E. coli XL1 Blue  $\times$  pBTaqTne2: TaqTne2 DSM No. 12 051
- E. coli XL1 Blue  $\times$  pBTaqPfu1: TaqPfu1 DSM No. 12 052.

- Die erfindungsgemäßen Polymerasenchimären eignen sich insbesondere für die Amplifikation von DNA-Fragmenten, z. B. für die Polymerase-Ketten-Reaktion. Eine weitere Anwendung ist beispielsweise die Sequenzierung von DNA-Fragmenten.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit zur Amplifikation von DNA-Fragmenten, der eine erfindungsgemäße Polymerasenchimäre enthält.

#### 50 Kurze Beschreibung der Abbildungen

- Abb. 1:**  
DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-H519) Taq DNA Polymerase (E424-E832); Punktmutation A643G; Ile455Val SEQ. ID No.: 1; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 7.
- Abb. 2:**  
DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (M1-P291) E. coli DNA Polymerase (Y327-G544) Taq DNA Polymerase (V449-E832); SEQ ID, No.: 2; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 8.
- Abb. 3:**  
60 DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-E485) Taq DNA Polymerase (E424-E832); stille Mutation A1449C SEQ ID No.: 3; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 9.
- Abb. 4:**  
DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (M1-P291) Tne DNA Polymerase (P295-GS10) Taq DNA Polymerase (V449-E832); stille Mutation C1767T SEQ ID No.: 4; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 10.
- Abb. 5:**  
65 DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (H103-S334) Taq DNA Polymerase (E424-E832); SEQ 10 No.: 5; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 11.
- Abb. 6:**

# DE 198 10 879 A 1

DNA-Sequenz der Taq DNA Polymerase (1-291) Pfu DNA Polymerase (V100-F389) Taq DNA Polymerase (V449-E832); SEQ ID No.: 6; sowie die entsprechende Aminosäuresequenz SEQ ID No.: 12.

## Abb. 7:

Aufreinigung der Domänen austauschvariante TaqEc1 an Ni-NTA-Agarose Analyse auf einem mit Coomassieblau angefärbten 8%igen Polyacrylamidgel.

Bahnen 1, 8: Proteinmolekulargewichtsmarker Broad Range (200 kDa, 116,25 kDa, 97,4 kDa, 66,2 kDa, 45 kDa, 31 kDa)

Bahn 2: lösliche Proteine.

Bahn 3: Säulendurchlauf

Bahn 4: Waschfraktion Puffer B

Bahn 5: Waschfraktion Puffer A

Bahnen 6, 7: Eluatfraktionen Puffer C

Proteinausbeute (OD<sub>220</sub>) etwa 7 mg.

## Abb. 8:

Bestimmung der Proteinreinheit: SDS-PAGE, Phast-System (10–15%); Silberfärbung MW:

Proteinmolekulargewichtsmarker; NHis-TaqPol: Taq DNA Polymerase mit N-terminalem His-Taq; TaqEc1, TaqTne1, TaqTne2: Domänen austauschvarianten.

## Abb. 9:

Spezifische Aktivitäten der Domänen austauschvarianten bei verschiedenen Temperaturen.

## Abb. 10:

Test der Domänen austauschvarianten in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe, Extension bei 72°C.

Lambda-DNA (links): Größe der Zielsequenz = 500 bp,

Plasmid pa (rechts): Größe der Zielsequenz = 250 bp

Bahn 1: Taq DNA Polymerase (Fa. BM), 100 ng, 5 Units

Bahn 2: Domänen austauschvariante TaqEc1, 500 ng, 1,25 Units/Zyklus

Bahn 3: Domänen austauschvariante TaqTne1, 50 ng, 3,6 Units/Zyklus

Bahn 4: Domänen austauschvariante TaqTne2, 50 ng, 3,5 Units/Zyklus

III: DNA-Längenstandard III (Fa. BM)

VI: DNA-Längenstandard VI (Fa. BM).

Ergebnis: Beim Einsatz der Domänen austauschvariante TaqTne2 entstanden PCR-Produkte der richtigen Größe.

## Abb. 11:

Test der Domänen austauschvarianten in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe, Extension bei 55°C.

Lambda-DNA (links): Größe der Zielsequenz = 500 bp

Plasmid pa (rechts): Größe der Zielsequenz = 250 bp

Bahn 1: Domänen austauschvariante TaqEc1, 500 ng, 6 Units/Zyklus

Bahn 2: Domänen austauschvariante TaqTne1, 50 ng, 7,5 Units/Zyklus

III: DNA-Längenstandard III (Fa. BM)

VI: DNA-Längenstandard VI (Fa. BM).

Ergebnis: Beim Einsatz der Domänen austauschvariante TaqEc1 entstanden PCR-Produkte der richtigen Größe.

## Abb. 12:

3'-5'-Exonuklease-Test Variante TaqEc1, Inkubation bei 72°C, Primer P1.

## Abb. 13:

3'-5'-Exonuklease-Test – Variante TaqEc1, Inkubation bei 50°C, Primer P1 (links), Primer P2 (rechts):

## Abb. 14:

Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung – Variante TaqEc1 (3'-mismatch primer correction assay)

(-): ohne Restriktionsenzymverdau

(+): Restriktionsenzymverdau mit Eco RI.

## Abb. 15:

Schematische Darstellung

Abbau von Primern am 3'-Ende (3'-5' exonuclease assay) und Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung (3'-mismatch primer correction assay).

## Abb. 16:

Schematische Darstellung: Vereinfachtes Ablaufschema, Abbau von Primern am 3'-Ende und Korrektur von 3'-mismatched Primern und Verlängerung.

# DE 198 10 879 A 1

## Beispiel 1

### Konstruktion und Klonierung

#### Etablierung eines universellen Aufreinigungsverfahrens

Zur Vereinheitlichung des Aufreinigungsprotokolls der Domänen austauschvarianten wurde die Affinitätschromatographie an Ni-NTA (nickel-nitrilotriacetic acid) Agarose verwendet. Dazu war es notwendig, vor der Herstellung der Proteinvarianten, ein His-Taq an die/in die Taq DNA Polymerase an/einzufügen. Geplant und hergestellt wurden zwei verschiedene His-Taq-Varianten im Plasmid Pbtatq4\_oligo67 (Boehringer Mannheim). Die Variante NHis-TaqPol enthält ein N-terminales His-Taq, eine Enterokinasespaltstelle, um das His-Taq gegebenenfalls abzuspalten und ein Epitop zum Nachweis der His-Taq-Proteine mit Antikörpern (Quiagen). Sie wurde durch PCR von der EcoRI-Site bis zur PstI-Site hergestellt. Bei der N-terminalen Proteinsequenzierung konnten von der Variante NHis-TaqPol die zwanzig N-terminalen Aminosäuren als richtig bestätigt werden.

#### Sequenz: NHis-TaqPol

EcoRI      Codon aus TaqPol

5' G AA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT GAC GAT AAA ATG AGG GGC  
3'

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp Lys Met Arg Gly

MRGS-His epitope [Met-Arg-Gly-Ser-(His)<sub>6</sub>]      Enterokinase [(Asp)<sub>4</sub>-Lys-X]

SEQ ID No.: 13: 5' G AA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT  
GCT GAC GAT GAC GAT AAA ATG AGG GGC 3'

SEQ ID No.: 14: Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp Lys Met  
Arg Gly

Die Variante 5DHis-TaqPol enthält ein His-Taq in einem flexiblen Loop der 5' Nukleasedomäne, zwischen Glydn 79 und Glycin 80 der Taq DNA Polymerase und wurde durch PCR-Mutagenese, von der EcoRI-Site bis zur PstI-Site, hergestellt.

#### Sequenz: 5DHis-TaqPol

SEQ ID No.: 15

SEQ ID No.: 16

5' GAG GCC TAC GGG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GGG TAC AAG GCG 3'  
Glu Ala Tyr Gly His His His His His His Gly Tyr Lys Ala

Die Korrektheit der Plasmid-DNA im jeweils modifizierten Bereich der beiden neuen Gene wurde durch DNA-Sequenzierung bestätigt. Beide modifizierten Gene wurden unter gleichen Bedingungen und in gleicher Höhe wie das Ausgangsprotein ohne His-Taq exprimiert, konnten gut über Ni-NTA-Agarose aufgereinigt werden und verhielten sich in der Standard-PCR wie die Taq Polymerase ohne His-Taq. Für die Aufreinigung der Domänen austauschvarianten wurde das N-terminale His-Taq verwendet.

#### Aminosäuresequenzalignments

Zur Planung der Domänen austauschvarianten wurden folgende Aminosäuresequenzalignments erstellt:

1. Tne-, E. coli I- und Taq DNA Polymerase
2. Pfu-, E. coli I- und Taq DNA Polymerase
3. Multiple Aminosäuresequenzalignments von DNA Polymerasen.

Die Alignments wurden bezogen auf einzelne Molekülbereiche (Domänen) mit dem Programm GCG erstellt und unter Berücksichtigung bekannter Sekundärstrukturen, Motive und essentieller Aminosäuren und unter Verwendung des



strukturbasierten Sequenzalignments der Sequenzen der 3'-5' Exonukleasedomäne des Klenow Fragmentes mit der entsprechenden Domäne der Taq DNA Polymerase (Abb. 2d in Kim et al. (1995) Nature 376; 612–616) zu dem vollständigen Sequenzalignments zusammengefügt.

Zur Auswahl der Ausgangsstruktur des Klenow Fragmentes für das Homologiemodelling wurden die damals zugänglichen Strukturen der E. coli DNA Polymerase I mit dem Programm Bragi im RMS-Fit verglichen: Klenow Fragment – dCMP Komplex (PDB-code: 1dpi), 2,8 Å (1987), Klenow Fragment – dCTP-Komplex (PDB-code: 1kfd) 3,9 Å (1993) und Klenow Fragment, D355A – DNA-Komplex (PDB-code: 1kln) 3,2 Å (1994).

Ausgewählt wurde die Struktur Klenow Fragment (PDB-code: 1kln). In den zwei Bereichen, in den Koordinaten fehlten, wurden zwei Loops eingebaut (Programm Bragi) und energieminiert (Programm Amber). Die Güte der Proteinstruktur wurde überprüft (Programm Procheck).

#### Erstellung von 3D-Modellen

Für dem Molekülbereich der Taq DNA Polymerase, der die Aminosäuren 292–832 umfaßt, wurde ein 3D-Modell in Homologie zur Struktur des Klenow Fragmentes (PDB-code: 1kln) mit dem Programm Bragi erstellt. Die Modellierung umfaßte Aminosäureaustausche, Einführung von Insertionen und Deletionen, Energieminimierung der neuen Loopbereiche und Energieminimierung des gesamten Moleküls (Programm Amber).

Die Struktur der Taq DNA Polymerase war zum Zeitpunkt der Modellierungsarbeiten schon veröffentlicht, jedoch noch nicht in der Proteindatenbank zugänglich. Zur Erstellung eines Modells der Zwischendomäne der Taq DNA Polymerase, die der 3'-5 Exonukleasedomäne des Klenow Fragmentes entspricht (Aminosäuren 292–423) wurde ein Stereobild (Abb. 2c in Kim et al. (1995) Nature 376, 612–616) eingescannt, die C $\alpha$ -Koordinaten am Bildschirm (jeweils x- und y-Koordinaten für das linke und rechte Bild) gepickt (Programm Magick, (John Cristy, E. I. du Pont De Nemours and Company Incorporated)), die z-Koordinaten berechnet (Programm Stereo, (Collaborative Computational Project, Number 4 (1994) Acta Cryst. D50, 76)–763)), die Proteinhauptkette unter Erzeugung eines poly-Alanins rekonstruiert (Programm O), Aminosäureaustausche durchgeführt (Programm Bragi) und eine Energieminimierung des gesamten Moleküls durchgeführt (Programm Amber). Das Modell der Aminosäurereste 292–423 (s. o.) wurde an das Modell der Polymerasedomäne (Aminosäuren 424–832) (s. o.) unter Berücksichtigung der Strukturalignments der Taq DNA Polymerase mit dem Klenow Fragment (Abb. 2b und 2c in Kim et al. (1995) Nature 376, 612–616) angefügt. Die gesamte Modellstruktur wurde energieminiert (Programm Amber) und die Güte der Modellstruktur überprüft (Programm Procheck, (Laskowski, R., A., et al. (1993) J. Appl. Cryst 26, 283–291)).

Von der Tne DNA Polymerase (Reste 297–893) wurde ein 3D-Modell in Homologie zur Struktur des Klenow Fragmentes (PDB-code: 1kln) erstellt. Die Modellierung umfaßte Aminosäureaustausche, Einführung von Insertionen und Deletionen (Programm Bragi), Energieminimierung der neuen Loopbereiche, Energieminimierung des gesamten Moleküls (Programm Amber) und Überprüfung der Güte der Modellstruktur (Programm Procheck).

Es wurden 20 Proteinvarianten geplant.

Bei Verwendung der F. coli polI und der Tne Polymerase anhand der erstellten 3D-Strukturmodelle, bei Verwendung der Pfu Polymerase anhand der erstellten Aminosäurealignments.

#### Gentechnische Herstellung oder Domänen austauschvarianten

Das N-terminale His-Taq wurde durch PCR eingefügt und die Domänen austauschvarianten wurden nach der modifizierten SOE-Methode (Horton et al. (1987) Gene 77, 61–68), dargestellt im Schema, mit Hilfe chemisch synthetisierter Oligodesoxynukleotide hergestellt.

Die jeweiligen DNA-Fragmente wurden auf einem Agarosegel aufgetrennt, mit dem QIAquick Gel Extraction Kit (Firma Qiagen) nach dem mitgelieferten Protokoll isoliert und bei den PCR-Reaktionen I bis IV in der nachfolgenden PCR-Reaktion eingesetzt oder bei der PCR-Reaktion V mit den beiden Restriktionsenzymen, deren Erkennungssequenz sich in den flankierenden Primern befanden (Eco RI und Pst I) nachgeschnitten. Die Ligation von DNA-Fragmenten und die Herstellung und Transformation von kompetenten XL1-Blue E. coli-Zellen durch Elektroporation erfolgte wie von Villbrandt (1995, Dissertation, TU Braunschweig) beschrieben. Es wurden einige Klone gepickt und deren Plasmid-DNA mit dem QIAprep Spin Plasmid Kit (Firma Qiagen) nach dem mitgelieferten Protokoll isoliert. Mikrobiologische Arbeitstechniken und die Rezepturen zur Herstellung von Flüssig- bzw. Plattenmedien sowie das Anlegen von Glycerinkulturen wurden, wie im Handbuch von Sambrook et al., (1989, Molecular cloning – a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York) beschrieben, durchgeführt. Die Domänen austauschvarianten konnten in gleicher Höhe wie das Ausgangsprotein exprimiert werden.

#### Beispiel 2

##### Aufreinigung (für eine Chimäre)

##### Aufreinigung der Domänen austauschvarianten

Alle Domänen austauschvarianten wurden nach dem gleichen Protokoll aus Escherichiacoli XL1-Blue isoliert. Die Fermentation erfolgte im 1-Liter-Maßstab in LB-Medium/100 mg/ml Ampicillin/12,5 mg/ml Tetracyclin/1 mM IPTG bei 37°C für 16 Stunden. Die Zellen wurden abzentrifugiert, in 20 ml Lysispuffer (50 mM Tris-HCl, pH, 8,5, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 1 mM PMSF) aufgenommen, bei –70°C für mindestens 16 Stunden eingefroren und 10 Minuten mit Ultraschall behandelt. Die Zelltrümmer wurden abzentrifugiert und der sterilfiltrierte Überstand auf eine Ni-NTA (nikel-nitrilotriacetic add)-Agarose-Säule (Qiagen) mit einem Säulenvolumen von 3,5 ml (r = 0,65 cm, h = 2,7 cm) aufgetragen. Es wurde mit 40 ml Puffer A (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 100 mM KCl, 20 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoet-

hanol, 10% (v/v) Glycerin), anschließend mit 10 ml Puffer B (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 1 M KCl, 20 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 10% (v/v) Glycerin) und nochmals mit 10 ml Puffer A gewaschen. Die Elution erfolgte mit 15 ml Puffer C (20 mM Tris-HCl, pH 8,5, 100 mM KCl, 100 mM Imidazol, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 10% (v/v) Glycerin). Die Flußrate betrug 0,5 ml/Minute und die Fraktionsgröße 10 ml bei den Waschfraktionen und 1 ml bei den Elutionfraktionen. Die vereinigten Fraktionen wurden gegen Lagerpuffer (20 mM Tris-HCl pH 8,6, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,5% Tween 20, 50% Glycerin) dialysiert und 200 µg/ml Gelatine sowie Nonidet P40 in einer Endkonzentration von 0,5% zugesetzt. Die Proteinlösungen wurden bei -20°C aufbewahrt. Die Analyse der Aufreinigung der Domänen austauschvariante TaqEc1 an Ni-NTA-Agarose wird in Abb. 7 gezeigt.

10

## Bestimmung der Proteinkonzentration

Die Proteinkonzentrationen wurden durch Messung der OD<sub>280</sub> und mit dem Protein Assay ESL (Boehringer Mannheim) bestimmt. Abb. 8 zeigt die Bestimmung der Proteinreinheit: SDS-PAGE, Phast-System (10–15%); Silberfärbung.

15

## Beispiel 3

## Temperaturoptimum der Polymeraseaktivität der Chimären

Die Polymeraseaktivitäten der Chimären wurden in einem nicht-radioaktiven Testsystem bestimmt. Zum Abgleich der Werte wurde ein radioaktives Testsystem verwendet. Beim nicht-radioaktiven Testsystem wurde die Einbaurate von Dig-dUTP in DNase aktivierte Kalbsthymus-DNA bestimmt. Ein 50 µl Testmix enthielt 5 µl Puffermix (500 mM Tris-HCl, 150 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100 mM KCl, 70 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM 2-Mercaptoethanol, pH 8,5), je 100 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 36 nM Dig-dUTP (Boehringer Mannheim), 12 µg Kalbsthymus-DNA (DNase aktiviert), 10 µg Rinderseumalbumin und 2 µl chimäres Enzym, oder 0,02 Units Taq Polymerase, (Boehringer Mannheim) als Referenz in Verdünnungspuffer (20 mM Tris-HCl, pH 8,0, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 µg/ml Gelatine, 0,5% Tween 20, 0,5% Nonidet P40, 50% Glycerin). Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte für 30 Minuten bei verschiedenen Temperaturen. Die Reaktionen wurden auf Eis abgestoppt. Je 5 µl der Reaktionsansätze wurden in weiße membranbeschichtete Mikrotiterplatten (Pall BioSupport, SM04SBWP) pipettiert und 10 Minuten bei 70°C gebacken. Die Membran der Mikrotiterplatte wurde unter Verwendung der zugehörigen Absaugwanne (Pall BioSupport wie folgt behandelt: 100 µl Puffer 1 (1%iges Blocking Reagenz (Boehringer Mannheim) in 0,1 M Maleinsäure, 0,15 M NaCl, pH 7,5) auftragen; zwei Minuten inkubieren, durchsaugen, einmal wiederholen; 100 µl Puffer 2 (1 : 10 000 verdünnter Anti-Dig-AP-Fab-Fragment Antikörpern (Boehringer Mannheim) in Puffer 1) auftragen, zwei Minuten inkubieren, durchsaugen, einmal wiederholen; 200 µl Puffer 3 (Puffer 1 mit 0,3% Tween 20) unter Vakuum auftragen, einmal wiederholen; 200 µl Puffer 4 (0,1 M Tris-HCl, 0,1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9,5) unter Vakuum auftragen; 50 µl Puffer 5 (1 : 100 verdünntes CSPD (Boehringer Mannheim) in Puffer 4) auftragen, fünf Minuten inkubieren, durchsaugen. Die Proben wurden im Luminometer (Microlumar LB 96P, Berthold oder Wallac Micro Beta Trilux) vermessen.

Beim radioaktiven Testsystem wurde die Einbaurate von α-[<sup>32</sup>P]dCTP in 1 µg M13 mp9 ss-DNA bestimmt. Ein 50 µl Testmix enthielt 5 µl Puffermix (670 mM Tris-HCl, 59 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM 2-Mercaptoethanol, 2% Tesit, 2 mg/ml Gelatine, pH 8,8), je 10 µM dATP, dGTP, dTTP, 5 µM CTP, 0,1 µCi [α-<sup>32</sup>P]dCTP, 1 µg M13 mp 9 ss-DNA annealed mit 0,3 µg M13-Primer und 1 µl chimäres Enzym, oder 0,01 Units Taq Polymerase (Boehringer Mannheim), als Referenz in Verdünnungspuffer (20 mM Tris-HCl; pH 8,0, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 µg/ml Gelatine, 0,5% Tween 20, 0,5% Nonidet P40, 50% Glycerin). Zur Herstellung der DNA-Primermischung wurden 277,2 µg M13 mp9 ss-DNA (Boehringer Mannheim) und 156 µg M13-Sequenzierprimer (17 mer) für 30 Minuten auf 55°C erhitzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur abgekühlt. Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte für 30 Minuten bei 65°C. Die Reaktionen wurden auf Eis abgestoppt. Je 25 µl der Reaktionslösungen wurden entnommen und in 250 µl 10% Trichloressigsäure (TCA)/0,01 M Natriumpyrophosphat (PPi) pipettiert, durchmischt und 30 Minuten auf Eis inkubiert. Die Proben wurden über vorgewässerten GFC-Filtern (Whatman) abgesaugt, die Reaktionsgefäße mit 5% tCA/PPi ausgewaschen und die Filter mindestens dreimal mit derselben Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen wurden die Filter in 5 ml Szintillationsflüssigkeit im β-Counter vermessen. Die Enzymproben wurden in Enzymverdünnungspuffer verdünnt. Von den Verdünnungen wurde jeweils 1 µl eingesetzt. Es wurden Doppel- oder Dreifachbestimmungen vorgenommen. Als Referenz wurde die Taq DNA Polymerase der Firma Boehringer Mannheim verwendet.

Eine Einheit (Unit) ist definiert als die Enzymmenge, die notwendig ist, um 10 nM Deoxyribonukleotidtriphosphat in säurefällbare DNA bei 65°C in 30 Minuten einzubauen. Zur Ermittlung der Standardwerte wurden je 2 µl der Gesamtmischung auf einen trockenen Filter pipettiert und getrocknet. Der Null-Wert wurde ermittelt, indem Proben ohne Enzym mitinkubiert und identisch gewaschen wurden.

Die Bestimmung der Temperaturoptima erfolgte mit dem nicht-radioaktiven DNA Polymerasetest bei verschiedenen Temperaturen.

60

65

# DE 198 10 879 A 1

Spezifische Aktivitäten bei verschiedenen Temperaturen

Enzym	Temperatur [°C]					
	25	37	50	60	72	80
TaqPol (BM)	0,0	0,0	5764,4	8489,1	50000,0	57986,1
NHis-TaqPol	0,0	0,0	5616,1	12165,2	60843,7	74784,4
TaqEc1	704,9	10353,4	50066,5	41034,4	2677,5	1016,2
TaqTne1	0,0	2559,4	15967,0	18900,4	1100,0	0,0
TaqTne2	747,2	5180,2	23549,6	30627,3	64139,1	28727,4

## Beispiel 4

Temperaturstabilität der Polymeraseaktivität der Chimären

Die Bestimmung der Thermostabilität erfolgte durch Erhitzen der Reaktionsansätze auf 80°C und 95°C für jeweils eine, drei oder sechs Minuten mit anschließender Bestimmung der Restaktivitäten mit dem nicht-radioaktiven DNA Polymerasetest (siehe Abb. 9).

## Tabelle

Restaktivitäten [Prozent der Ausgangsaktivität ohne Hitzebehandlung] bei 72°C der Taq DNA Polymerase (TaqPol), der Taq DNA Polymerase mit HisTaq (HHis-TaqPol) und der drei Domänen austauschvarianten (TaqEc1, TaqTne1, TaqTne2) nach der Hitzebehandlung (Einbau von Dig-dUTP in DNase aktivierte Kalbsthymus-DNA)

Enzym	1 Min	3 Min	6 Min	1 Min	3 Min	6 Min
	80°C	80°C	80°C	95°C	95°C	95°C
TaqPol	100	100	100	100	100	100
NHis-TaqPol	100	100	100	100	100	100
TaqEc1	0	0	0	0	0	0
TaqTne1	16	0	0	0	0	0
TaqTne2	100	100	100	92	0	0

## Beispiel 5

PCR unter sukzessiver Enzymzugabe

Die Polymerasenchimären wurden in der PCR unter sukzessiver Enzymzugabe getestet. Die Extension erfolgte bei 72°C (Abb. 10) und bei 55°C (Abb. 11). Der Reaktionsansätze mit einem Reaktionsvolumen von 100 µl enthielten jeweils 1 ng Lambda-DNA oder pa-Plasmid-DNA (Fa. BM), je 1 µM Primer (25-mer), je 200 µM jedes dNTP's und Standard-PCR-Puffer mit MgCl<sub>2</sub> (Boehringer Mannheim). Die Reaktionsbedingungen waren:

Für Extension bei 72°C: 1 Minute 94°C/30 Sekunden 50°C/1 Minute 72°C//125 Zyklen, 2 Minuten 94°C vor und 7 Minuten 72°C nach der PCR-Reaktion. Die Zugabe von 0,5 µl der Domänen austauschvarianten pro Zyklus erfolgte jeweils bei 50°C.

Für Extension bei 55°C: 1 Minute 95°C/30 Sekunden 50°C/1 Minute 55°C//25 Zyklen, 2 Minuten 95°C vor und 7 Minuten 55°C nach der PCR-Reaktion. Die Zugabe von 0,5 µl der Domänen austauschvarianten pro Zyklus erfolgte jeweils bei 50°C.

## Beispiel 6

3'-5' Exonuklease-Test - Variante TaqEc1

Die Proben wurden mit einem 5'-Dig-markierten Primer, der an einen DNA-Matrizenstrang annealt, in Abwesenheit von Nukleotiden inkubiert. Ein 10 µl Testmix enthielt 1 µl Puffer (100 mM Tris-HCL, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 500 mM KCl, 0,1 mg/ml Gelatine, pH 8,3), 1 µl Enzym TaqEc1 (500 Einheiten/µl), 1 pMol Matrizenstrang (50mer, siehe Schema) und je 500 fMol 5'-Dig-markierten Primer P1 (matched, 23mer, siehe Schema) oder P2 (mismatched, 23mer, siehe Schema). Die Inkubation der Reaktionsansätze erfolgte bei 50°C mit unterschiedlicher Inkubationsdauer. Die DNA-Fragmente

wurden auf einem 12,5%igen Acrylamidgel (SequaGel-Kit, Firma Medco) aufgetrennt und durch Kontaktblot auf eine Nylonmembran (Boehringer Mannheim) übertragen. Die Nylonmembran wurde wie folgt behandelt: 100 ml Puffer 1 (1%iges Blocking Reagenz (Boehringer Mannheim) in 0,1 M Maleinsäure, 0,15 M NaCl, pH 7,5), 30 Minuten Inkubation; 100 ml Puffer 2 (1 : 10 000 verdünnter Anti-Dig-AP-Fab-Fragment Antikörper (Boehringer Mannheim) in Puffer 1), 30 Minuten Inkubation; je 135 ml Puffer 3 (Puffer 1 mit 0,3% Tween 20), dreimal für 30 Minuten waschen; 50 ml Puffer 4 (0,1 M Tris-HCl, 0,1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9,5), 5 Minuten Inkubation; 50 ml Puffer 5 (1 : 1000 verdünntes CPD-Star (Boehringer Mannheim) in Puffer 4), 5 Minuten Inkubation. Die Nylonmembran wurde auf Watman-Papier getrocknet und zur Chemilumineszenz-Detektion für 30 bis 60 Minuten auf einem Chemilumineszenzfilm (Boehringer Mannheim) exponiert. Beim Vorhandensein einer 3'-5' Exonuklease wird der Abbau des Primer am 3'-Ende sichtbar (siehe Abbildungen). Als Negativkontrolle wurde die Taq Polymerase mit HisTaq (NHis-TaqPol), und als Positivkontrolle die UITma DNA Polymerase verwendet. Bei beiden Kontrollenzymen erfolgte die Inkubation der Reaktionsansätze bei 72°C. Für die UITma DNA Polymerase wurde der vom Hersteller angegebene Reaktionspuffer verwendet. Abb. 12 und 13 zeigen, den 3'-5'-Exonuklease-Test-Variante TaqEc1.

#### Beispiel 7

Korrektur von 3'-mismatched Primern und deren Verlängerung – Variante TaqEc1 (3'-mismatch primer correction assay)

Dig-markierte Primer, die an einen Matrizenstrang (50 mer, siehe Schema) annealen wurden in vier verschiedenen Experimenten verlängert. Primer waren ein matched Primer (P1, 23 mer, siehe Schema) und zwei verschiedene mismatched Primer (P2, P3, 23 mere, siehe Schema), die in der Erkennungssequenz des Restriktionsenzym Eco RI annealen. Ein 20 µl Testmix enthielt 1 µl Puffer (100 mM Tris-HCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 500 mM KCl, 0,1 mg/ml Gelatine, pH 8,3), 1 µl Enzym TaqEc1 (500 Einheiten/µl), je 10 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 1 pMol Matrizenstrang und je 500 fMol 5'-Dig-markierten Primer P1 (matched) oder P2 (mismatched) oder P3 (mismatched). Die Reaktionsansätze wurden für 60 Minuten bei 50°C inkubiert und danach für 5 Minuten bei 95°C erhitzt. Je 10 µl wurden entnommen und mit je 10 Einheiten Eco RI für 30 Minuten bei 37°C gespalten. Die DNA-Fragmente wurden auf einem 12,5%igen, Acrylamidgel (SequaGel-Kit, Firma Medco) aufgetrennt und durch Kontaktblot auf eine Nylonmembran (Boehringer Mannheim) übertragen. Die Nylonmembran wurde wie oben beschrieben behandelt und für 30 bis 60 Minuten auf einem Chemilumineszenzfilm (Boehringer Mannheim) exponiert. Bei der Verwendung des matched Primer resultiert der Verdau mit Eco RI in einem 28 bp und einem 18 bp Fragment. Die mismatched Primer liefern dieses Ergebnis nur dann, wenn mismatched Nukleotide durch matched Nukleotide ersetzt werden (siehe Abb. 14).

# DE 198 10 879 A 1

## SEQUENZPROTOKOLL

### (1) ALLGEMEINE ANGABEN:

#### (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Boehringer Mannheim GmbH
- (B) STRASSE: Sandhoferstr. 116
- (C) ORT: Mannheim
- (E) LAND: DE
- (F) POSTLEITZAHL: 68305
- (G) TELEFON: 06217595482
- (H) TELEFAX: 06217594457

#### (ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Polymerasenchimaeren

#### (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 14

#### (iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

### (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

#### (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

#### (ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

#### (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

```

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC      60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC      120
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG      180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC      240
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG      300
GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGA CTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG      360
GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC      420

```

# DE 198 10 879 A 1

	AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA	480
	GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC	540
5	ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG	600
	GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG	660
10	GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG	720
	CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG	780
15	GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG	840
	CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC	900
20	GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA TGAAGAAACA	960
	CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT TTGCATTGA TACCGAAACC	1020
25	GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG GTCGGGCTTT CTTTGTCTAT CGAGCCAGGC	1080
	GTAGCGGCAT ATATTCCGGT TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC	1140
30	GAGCGTGCAC TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCGGG	1200
	CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT GCGTGGGATT	1260
35	GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG TTGCCGGGCG TCACGATATG	1320
	GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC AAAACCATCA CTTTGAAGA GATTGCTGGT	1380
40	AAAGGCAAAA ATCAACTGAC CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC	1440
	GCCGAAGATG CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA	1500
45	CACGAGAGGC TCCTTTGGCT TTACCGGGAG GTGGAGAGGC CCCTTTCCGC TGTCTGGCC	1560
	CACATGGAGG CCACGGGGGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG	1620
50	GTGGCCGAGG AGGTGCCCCG CCTCGAGGCC GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC	1680
	AACCTCAACT CCCGGGACCA GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC	1740
55	ATCGGCAAGA CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CGCCGTCCT GGAGGCCCTC	1800
	CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC CAAGCTGAAG	1860
60	AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA GGACGGCCG CCTCCACACC	1920
	CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG	1980

65

# DE 198 10 879 A 1

AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG	2040	
GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGA CTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC	2100	5
TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC	2160	
GCCAGCTGGA TGTTCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC	2220	10
AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA	2280	
GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTCCCCAAG	2340	15
GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GCGGGGGTA CGTGGAGACC	2400	
CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCC GGGTGAAGAG CGTGCGGGAG	2460	
GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG	2520	20
CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG	2580	
GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG	2640	25
GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG	2700	
ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA	2733	30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2733 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC	60	
ATGCTACCGC TATTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC	120	50
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG	180	
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC	240	55
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG	300	
GGCCGGGCCC CCACGCCGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG	360	60

# DE 198 10 879 A 1

	GACCTCCTGG	GGCTGGCGCG	CCTCGAGGTC	CCGGGCTACG	AGGOGGACGA	CGTCCTGGCC	420
	AGCCTGGCCA	AGAAGGCGGA	AAAGGAGGGC	TACGAGGTCC	GCATCCTCAC	CGCCGACAAA	480
5	GACCTTTACC	AGCTCCTTTC	CGACCGCATC	CACGTCTCTC	ACCCCGAGGG	GTACCTCATC	540
	ACCCCGGCCT	GGCTTTGGGA	AAAGTACGGC	CTGAGGCCCG	ACCAGTGGGC	CGACTACCGG	600
10	GCCCTGACCG	GGGACGAGTC	CGACAACCTT	CCCGGGGTCA	AGGGCATCGG	GGAGAAGACG	660
	GCGAGGAAGC	TTCTGGAGGA	GTGGGGGAGC	CTGGAAGCCC	TCCTCAAGAA	CCTGGACCGG	720
15	CTGAAGCCCG	CCATCCGGGA	GAAGATCCTG	GCCCACATGG	ACGATCTGAA	GCTCTCCTGG	780
	GACCTGGCCA	AGGTGCGCAC	CGACCTGCCC	CTGGAGGTGG	ACTTCGCCAA	AAGGCGGGAG	840
20	CCCGACCGGG	AGAGGCTTAG	GGCCTTTCTG	GAGAGGCTTG	AGTTTGGCAG	CCTCCTCCAC	900
	GAGTTCGGCC	TTCTGGAAAG	CCCCTATGAC	AACTACGTCA	CCATCCTTGA	TGAAGAAACA	960
25	CTGAAAGCGT	GGATTGCGAA	GCTGGAAAAA	GCGCCGGTAT	TTGCATTTGA	TACCGAAACC	1020
	GACAGCCTTG	ATAACATCTC	TGCTAACCTG	GTCGGGCTTT	CTTTTGCTAT	CGAGCCAGGC	1080
30	GTAGCGGCAT	ATATTCCGGT	TGCTCATGAT	TATCTTGATG	CGCCCGATCA	AATCTCTCGC	1140
	GAGCGTGAC	TCGAGTTGCT	AAAACCGCTG	CTGGAAGATG	AAAAGGCGCT	GAAGGTCGGG	1200
35	CAAAACCTGA	AATACGATCG	CGGTATTCTG	GCGAACTACG	GCATTGAACT	GCGTGGGATT	1260
	GCGTTTGATA	CCATGCTGGA	GTCCTACATT	CTCAATAGCG	TTGCCGGGCG	TCACGATATG	1320
40	GACAGCCTCG	CGGAACGTTG	GTTGAAGCAC	AAAACCATCA	CTTTTGAAGA	GATTGCTGGT	1380
	AAAGGCAAAA	ATCAACTGAC	CTTTAACCAG	ATTGCCCTCG	AAGAAGCCGG	ACGTTACGCC	1440
45	GCCGAAGATG	CAGATGTCAC	CTTGCAAGTTG	CATCTGAAAA	TGTGGCCGGA	TCTGCAAAAA	1500
	CACAAAGGGC	CGTTGAACGT	CTTCGAGAAT	ATCGAAATGC	CGCTGGTGCC	GGTGCTTTCA	1560
	CGCATTGAAC	GTAACGGTGT	GCGCCTGGAC	GTGGCCTATC	TCAGGGCCTT	GTCCCTGGAG	1620
50	GTGGCCGAGG	AGATCGCCCG	CCTCGAGGCC	GAGGTCTTCC	GCCTGGCCCG	CCACCCCTTC	1680
	AACCTCAACT	CCCGGGACCA	GCTGGAAAGG	GTCCTCTTTG	ACGAGCTAGG	GCTTCCCGCC	1740
55	ATCGGCAAGA	CGGAGAAGAC	CGGCAAGCGC	TCCACCAGCG	CGCCGTCCT	GGAGGCCCTC	1800
	CGCGAGGCCC	ACCCCATCGT	GGAGAAGATC	CTGCAGTACC	GGGAGCTCAC	CAAGCTGAAG	1860
60	AGCACCTACA	TTGACCCCTT	GCCGGACCTC	ATCCACCCCA	GGACGGGCCG	CCTCCACACC	1920

65



# DE 198 10 879 A 1

CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC AGGCTAAGTA GTCCTGATCC CAACCTCCAG	1980
AACATCCCCG TCCGCACCCC GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG	2040
GGGTGGCTAT TGGTGGCCCT GGACTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC	2100
TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA CACGGAGACC	2160
GCCAGCTGGA TGTTGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC CCCTGATGCG CCGGGCGGCC	2220
AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC ATGTCCGCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA	2280
GCCATCCCTT ACGAGGAGGC CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG	2340
GTGCGGGCCT GGATTGAGAA GACCCTGGAG GAGGGCAGGA GCGGGGGTA CGTGGAGACC	2400
CTCTTCGGCC GCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCC GGGTGAAGAG CGTGCAGGAG	2460
GCGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA CCGCCGCCGA CCTCATGAAG	2520
CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG	2580
GTCCACGACG AGCTGGTCCT CGAGGCCCA AAAGAGAGG CGGAGGCCGT GGCCCGCTG	2640
GCCAAGGAGG TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG	2700
ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA	2733

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC	60
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC	120
TACCGACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG	180
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC	240
GTGGTCTTTG ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG	300

# DE 198 10 879 A 1

	GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA GGAGCTGGTG	360
5	GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG AGGCGGACGA CGTCCTGGCC	420
	AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA	480
10	GACCTTTACC AGCTCCTTTC CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC	540
	ACCCCGGCCT GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG	600
15	GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG GGAGAAGACG	660
	GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC TCCTCAAGAA CCTGGACCGG	720
20	CTGAAGCCCG CCATCCGGA GAAGATCCTG GCCACATGG ACATCTGAA GCTCTCCTGG	780
	GACCTGGCCA AGGTGCGCAC CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG	840
25	CCCGACCGGG AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC	900
	GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA CCTGGTGGAA	960
30	TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT TCGCCATAGA TCTTGAGACG	1020
	TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG	1080
35	GAAGCGTACT ACATACCACT CCATCATAGA AACGCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT	1140
	CTGAAAAGC TAAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAAATTG	1200
40	AAATTGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC TCACCTCGAC	1260
	ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCG AACGAAAAGA AGTTCAATCT GGACGATCTC	1320
45	GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT	1380
	CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT	1440
50	GAAGATGCCG ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAACT CCACGAGGAG	1500
	AGGCTCCTTT GGCTTTACCG GGAGGTGGAG AGGCCCTTT CCGCTGTCCT GGCCACATG	1560
55	GAGGCCACGG GGGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG CCTTGTCCCT GGAGGTGGCC	1620
	GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCAGAGGTC TTCCGCCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC	1680
60	AACTCCCGGG ACCAGCTGGA AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC	1740
	AAGACGGAGA AGACCGGCAA GCGCTCCACC AGCGCCGCCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG	1800
65	GCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC	1860

# DE 198 10 879 A 1

TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC	1920	
AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC	1980	5
CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCTT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG	2040	
CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC	2100	10
GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC	2160	
TGGATGTTCC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA TGCGCCGGGC GGCCAAGACC	2220	15
ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG GCCCACC GCC TCTCCAGGA GCTAGCCATC	2280	
CCTTACGAGG AGGCCCAGGC CTTATTGAG CGTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG	2340	
GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCTCTTC	2400	20
GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC	2460	
GAGCGCATGG CTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACGCGC CCGACCTCAT GAAGCTGGCT	2520	25
ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC	2580	
GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG	2640	30
GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG	2700	
GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA	2727	35

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

### (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2727 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

### (ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

### (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC	60	
ATGCTACCGC TATTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC	120	55
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG	180	
GTCTACGGCT TCGCCAAGAG CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC	240	60

# DE 198 10 879 A 1

	GTGGTCTTTG	ACGCCAAGGC	CCCCTCCTTC	CGCCACGAGG	CCTACGGGGG	GTACAAGGCG	300
5	GGCCGGGCCC	CCACGCCGGA	GGACTTTCCC	CGGCAACTCG	CCCTCATCAA	GGAGCTGGTG	360
	GACCTCCTGG	GGCTGGCGCG	CCTCGAGGTC	CCGGGCTACG	AGGCGGACGA	CGTCCTGGCC	420
10	AGCCTGGCCA	AGAAGGCGGA	AAAGGAGGGC	TACGAGGTCC	GCATCCTCAC	CGCCGACAAA	480
	GACCTTTACC	AGCTCCTTTC	CGACCGCATC	CACGTCTCC	ACCCCGAGGG	GTACCTCATC	540
	ACCCCGGCCT	GGCTTTGGGA	AAAGTACGGC	CTGAGGCCCG	ACCAGTGGGC	CGACTACCGG	600
15	GCCCTGACCG	GGGACGAGTC	CGACAACCTT	CCCGGGGTCA	AGGGCATCGG	GGAGAAGACG	660
	GCGAGGAAGC	TTCTGGAGGA	GTGGGGGAGC	CTGGAAGCCC	TCCTCAAGAA	CCTGGACCGG	720
20	CTGAAGCCCG	CCATCCGGGA	GAAGATCCTG	GCCCACATGG	ACGATCTGAA	GCTCTCCTGG	780
	GACCTGGCCA	AGGTGCGCAC	CGACCTGCCC	CTGGAGGTGG	ACTTCGCCAA	AAGGCGGGAG	840
25	CCCGACCGGG	AGAGGCTTAG	GGCCTTTCCTG	GAGAGGCTTG	AGTTTGGCAG	CCTCCTCCAC	900
	GAGTTCGGCC	TTCTGGAAAG	CCCCCCCCTT	GGATACAGAA	TAGTGAAAGA	CCTGGTGGAA	960
30	TTTGAAAAAC	TCATAGAGAA	ACTGAGAGAA	TCCCCTTCGT	TCGCCATAGA	TCTTGAGACG	1020
	TCTTCCCTCG	ATCCTTTTGA	CTGCGACATT	GTCGGTATCT	CTGTGTCTTT	CAAACCAAAG	1080
35	GAAGCGTACT	ACATACCACT	CCATCATAGA	AACGCCCAGA	ACCTGGATGA	AAAAGAAGTT	1140
	CTGAAAAAGC	TAAAAGAAAT	CCTGGAGGAC	CCCGGAGCAA	AGATCGTTGG	TCAGAATTTG	1200
40	AAATTCGATT	ACAAGGTGTT	GATGGTAAAG	GGTGTGTAAC	CTGTCCCTCC	TCACTTCGAC	1260
	ACGATGATAG	CGGCTTACCT	TCTTGAGCCG	AACGAAAAGA	AGTTCAATCT	GGACGATCTC	1320
45	GCATTGAAAT	TTCTTGATA	CAAAATGACC	TCTTACCAGG	AACTCATGTC	CTTCTCTTCT	1380
	CCGCTGTTTG	GTTTCAGTTT	TGCCGATGTT	CCTGTAGAAA	AAGCAGCGAA	CTATTCCTGT	1440
	GAAGATGCAG	ACATCACCTA	CAGACTCTAC	AAGATCCTGA	GCTTAAAACT	CCACGAGGCA	1500
50	GATCTGGAGA	ACGTGTTCTA	CAAGATAGAA	ATGCCTCTTG	TGAGCGTGCT	TGCACGGATG	1560
	GAAGTGAACG	GTGTGCGCCT	GGACGTGGCC	TATCTCAGGG	CCTTGTCCTT	GGAGGTGGCC	1620
55	GAGGAGATCG	CCCGCCTCGA	GGCCGAGGTC	TTCCGCCTGG	CCGGCCACCC	CTTCAACCTC	1680
	AACTCCCGGG	ACCAGCTGGA	AAGGGTCCTC	TTTGACGAGC	TAGGGCTTCC	CGCCATCGGC	1740
60	AAGACGGAGA	AGACCGGCAA	GCGCTCTACC	AGCGCCGCCG	TCCTGGAGGC	CCTCCGCGAG	1800

65

# DE 198 10 879 A 1

GCCCCACCCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT GAAGAGCACC	1860	
TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG GCCGCCTCCA CACCCGCTTC	1920	5
AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC	1980	
CCCGTCCGCA CCCCCTTGG GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG	2040	10
CTATTGGTGG CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC	2100	
GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA GACCGCCAGC	2160	15
TGGATGTTGG GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA TGCGCCGGGC GGCCAAGACC	2220	
ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG GCCCACC GCC TCTCCAGGA GCTAGCCATC	2280	
CCTTACGAGG AGGCCCAGGC CTTCAATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG	2340	20
GCCTGGATTG AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCCCTCTTC	2400	
GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGTGA AGAGCGTGCG GGAGGCGGCC	2460	25
GAGCGCATGG CCTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG CCGACCTCAT GAAGCTGGCT	2520	
ATGGTGAAGC TCTTCCCCAG GCTGGAGGAA ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC	2580	30
GACGAGCTGG TCCTCGAGGC CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG	2640	
GAGGTCATGG AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG	2700	35
GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA	2727	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2850 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA AATGAGGGGC	60	55
ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG TCGACGGCCA CCACCTGGCC	120	
TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG	180	60

# DE 198 10 879 A 1

	GTCTACGGCT	TCGCCAAGAG	CCTCCTCAAG	GCCCTCAAGG	AGGACGGGGA	CGCGGTGATC	240
	GTGGTCTTTG	ACGCCAAGGC	CCCCTCCTTC	CGCCACGAGG	CCTACGGGGG	GTACAAGGCG	300
5	GGCCGGGCCC	CCACGCCGGA	GGACTTTCCC	CGGCAACTCG	CCCTCATCAA	GGAGCTGGTG	360
	GACCTCCTGG	GGCTGGCGCG	CCTCGAGGTC	CCGGGCTACG	AGGCGGACGA	CGTCCTGGCC	420
10	AGCCTGGCCA	AGAAGGCGGA	AAAGGAGGGC	TACGAGGTCC	GCATCCTCAC	CGCCGACAAA	480
	GACCTTTACC	AGCTCCTTTC	CGACCGCATC	CACGTCCTCC	ACCCCGAGGG	GTACCTCATC	540
15	ACCCCGGCCT	GGCTTTGGGA	AAAGTACGGC	CTGAGGCCCG	ACCAGTGGGC	CGACTACCGG	600
	GCCCTGACCG	GGGACGAGTC	CGACAACCTT	CCCGGGGTCA	AGGGCATCGG	GGAGAAGACG	660
20	GCGAGGAAGC	TTCTGGAGGA	GTGGGGGAGC	CTGGAAGCCC	TCCTCAAGAA	CCTGGACCGG	720
	CTGAAGCCCG	CCATCCGGGA	GAAGATCCTG	GCCCACATGG	ACGATCTGAA	GCTCTCCTGG	780
25	GACCTGGCCA	AGGTGCGCAC	CGACCTGCCC	CTGGAGGTGG	ACTTCGCCAA	AAGGCGGGAG	840
	CCCGACCGGG	AGAGGCTTAG	GGCCTTTCTG	GAGAGGCTTG	AGTTTGGCAG	CCTCCTCCAC	900
30	GAGTTCGGCC	TTCTGGAAAG	CCCCCATCCA	GCAGTTGTGG	ACATCTTCGA	ATACGATATT	960
	CCATTTGCAA	AGAGATACCT	CATCGACAAA	GGCCTAATAC	CAATGGAGGG	GGAAGAAGAG	1020
35	CTAAAGATTG	TTGCCTTCGA	TATAGAAACC	CTCTATCACG	AAGGAGAAGA	GTTTGGAAAA	1080
	GGCCCAATTA	TAATGATTAG	TTATGCAGAT	GAAAATGAAG	CAAAGGTGAT	TACTTGGAAA	1140
40	AACATAGATC	TTCCATACGT	TGAGGTTGTA	TCAAGCGAGA	GAGAGATGAT	AAAGAGATTT	1200
	CTCAGGATTA	TCAGGGAGAA	GGATCCTGAC	ATTATAGTTA	CTTATAATGG	AGACTCATTG	1260
45	GACTTCCCAT	ATTTAGCGAA	AAGGGCAGAA	AACTTGGGA	TTAAATTAAC	CATTGGAAGA	1320
	GATGGAAGCG	AGCCCAAGAT	GCAGAGAATA	GGCGATATGA	CGGCTGTAGA	AGTCAAGGGA	1380
50	AGAATACATT	TCGACTTGTA	TCATGTAATA	ACAAGGACAA	TAAATCTCCC	AACATACACA	1440
	CTAGAGGCTG	TATATGAAGC	AATTTTTTGA	AAGCCAAAGG	AGAAGGTATA	CGCCGACGAG	1500
55	ATAGCAAAAG	CCTGGGAAAG	TGGAGAGAAC	CTTGAGAGAG	TGCCAAATA	CTCGATGGAA	1560
	GATGCAAAGG	CAACTTATGA	ACTCGGGAAA	GAATTCCTTC	CAATGGAAAT	TCAGCTTTCA	1620
60	GAGAGGCTCC	TTTGGCTTTA	CCGGGAGGTG	GAGAGGCCCC	TTCCGCTGT	CCTGGCCAC	1680
	ATGGAGGCCA	CGGGGGTGCG	CCTGGACGTG	GCCTATCTCA	GGGCCTTGTC	CCTGGAGGTG	1740

65

# DE 198 10 879 A 1

GCCGAGGAGA TCGCCCGCCT CGAGGCCGAG GTCTTCCGCC TGGCCGGCCA CCCCTTCAAC	1800	
CTCAACTCCC GGGACCAGCT GGAAAGGGTC CTCTTTGACG AGCTAGGGCT TCCCGCCATC	1860	5
GGCAAGACGG AGAAGACCGG CAAGCGCTCC ACCAGCGCCG CCGTCCTGGA GGCCCTCCGC	1920	
GAGGCCCAACC CCATCGTGGG GAAGATCCTG CAGTACCGGG AGCTCACCAA GCTGAAGAGC	1980	10
ACCTACATTG ACCCCTTGCC GGACCTCATC CACCCCAGGA CGGGCCGCCT CCACACCCGC	2040	
TTCAACCAGA CGGCCACGGC CACGGGCAGG CTAAGTAGCT CCGATCCCAA CCTCCAGAAC	2100	15
ATCCCCGTCC GCACCCCGCT TGGGCAGAGG ATCCGCCGGG CCTTCATCGC CGAGGAGGGG	2160	
TGGCTATTGG TGGCCCTGGA CTATAGCCAG ATAGAGCTCA GGGTGCTGGC CCACCTCTCC	2220	20
GGCGACGAGA ACCTGATCCG GGTCTTCCAG GAGGGGCGGG ACATCCACAC GGAGACCGCC	2280	
AGCTGGATGT TCGGCGTCCC CCGGGAGGCC GTGGACCCCC TGATGCGCCG GGCGGCCAAG	2340	25
ACCATCAACT TCGGGGTCTT CTACGGCATG TCGGCCACC GCCTCTCCA GGAGCTAGCC	2400	
ATCCCTTACG AGGAGGCCCA GGCCTTCATT GAGCGCTACT TTCAGAGCTT CCCCAGGTG	2460	30
CGGGCCTGGA TTGAGAAGAC CCTGGAGGAG GGCAGGAGGC GGGGGTACGT GGAGACCTC	2520	
TTCGGCCGCC GCCGCTACGT GCCAGACCTA GAGGCCCGGG TGAAGAGCGT GCGGGAGGCG	2580	35
GCCGAGCGCA TGGCCTTCAA CATGCCCGTC CAGGGCACCG CCGCCGACCT CATGAAGCTG	2640	
GCTATGGTGA AGCTCTTCCC CAGGCTGGAG GAAATGGGGG CCAGGATGCT CCTTCAGGTC	2700	40
CACGACGAGC TGGTCCTCGA GGCCCCAAAA GAGAGGGCGG AGGCCGTGGC CCGGCTGGCC	2760	
AAGGAGGTCA TGGAGGGGGT GTATCCCCTG GCCGTGCCCC TGGAGGTGGA GGTGGGGATA	2820	45
GGGGAGGACT GGCTCTCCGC CAAGGAGTGA	2850	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 2949 Basenpaare
- (B) ART: Nucleotid
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Genom-DNA

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

# DE 198 10 879 A 1

	ATGAGGGGCT	CGCATCACCA	TCACCATCAC	GCTGCTGACG	ATGACGATAA	AATGAGGGGC	60
5	ATGCTACCGC	TATTTGAGCC	CAAGGGCCGG	GTCTCTCTGG	TCGACGGCCA	CCACCTGGCC	120
	TACCGCACCT	TCCACGCCCT	GAAGGGCCTC	ACCACCAGCC	GGGGGGAGCC	GGTGCAGGCG	180
10	GTCTACGGCT	TCGCCAAGAG	CCTCCTCAAG	GCCCTCAAGG	AGGACGGGGA	CGCGGTGATC	240
	GTGGTCTTTG	ACGCCAAGGC	CCCCTCCTTC	CGCCACGAGG	CCTACGGGGG	GTACAAGGCG	300
	GGCCGGGCCC	CCACGCCGGA	GGACTTTCCC	CGGCAACTCG	CCCTCATCAA	GGAGCTGGTG	360
15	GACCTCCTGG	GGCTGGCGCG	CCTCGAGGTC	CCGGGCTACG	AGGCGGACGA	CGTCCTGGCC	420
	AGCCTGGCCA	AGAAGGCGGA	AAAGGAGGGC	TACGAGGTCC	GCATCCTCAC	CGCCGACAAA	480
20	GACCTTTACC	AGCTCCTTTC	CGACCGCATC	CACGTCCTCC	ACCCCGAGGG	GTACCTCATC	540
	ACCCCGGCCT	GGCTTTGGGA	AAAGTACGGC	CTGAGGCCCG	ACCACTGGGC	CGACTACCGG	600
25	GCCCTGACCG	GGGACGAGTC	CGACAACCTT	CCCGGGGTCA	AGGGCATCGG	GGAGAAGACG	660
	GCGAGGAAGC	TTCTGGAGGA	GTGGGGGAGC	CTGGAAGCCC	TCCTCAAGAA	CCTGGACCGG	720
30	CTGAAGCCCG	CCATCCGGGA	GAAGATCCTG	GCCCACATGG	ACGATCTGAA	GCTCTCTCTG	780
	GACCTGGCCA	AGGTGCGCAC	CGACCTGCCC	CTGGAGGTGG	ACTTCGCCAA	AAGGCGGGAG	840
35	CCCGACCGGG	AGAGGCTTAG	GGCCTTTCTG	GAGAGGCTTG	AGTTTGGCAG	CCTCCTCCAC	900
	GAGTTCGGCC	TTCTGGAAAG	CCCCGTTAGA	GAACATCCAG	CAGTTGTGGA	CATCTTCGAA	960
40	TACGATATTC	CATTTGCAAA	GAGATACCTC	ATCGACAAAG	GCCTAATACC	AATGGAGGGG	1020
	GAAGAAGAGC	TAAAGATTCT	TGCCTTCGAT	ATAGAAACCC	TCTATCACGA	AGGAGAAGAG	1080
45	TTTGGAAGAG	GCCCAATTAT	AATGATTAGT	TATGCAGATG	AAAATGAAGC	AAAGGTGATT	1140
	ACTTGGAAAA	ACATAGATCT	TCCATACGTT	GAGGTTGTAT	CAAGCGAGAG	AGAGATGATA	1200
50	AAGAGATTTT	TCAGGATTAT	CAGGGAGAAG	GATCCTGACA	TTATAGTTAC	TTATAATGGA	1260
	GACTCATTCG	ACTTCCCATA	TTTAGCGAAA	AGGGCAGAAA	AACTTGGGAT	TAAATTAACC	1320
	ATTGGAAGAG	ATGGAAGCGA	GCCCAAGATG	CAGAGAATAG	GCGATATGAC	GGCTGTAGAA	1380
55	GTCAAGGGAA	GAATACATTT	CGACTTGTAT	CATGTAATAA	CAAGGACAAT	AAATCTCCCA	1440
	ACATACACAC	TAGAGGCTGT	ATATGAAGCA	ATTTTGGGAA	AGCCAAAGGA	GAAGGTATAC	1500
60	GCCGACGAGA	TAGCAAAAGC	CTGGGAAAGT	GGAGAGAAAC	TTGAGAGAGT	TGCCAAATAC	1560

65



# DE 198 10 879 A 1

TCGATGGAAG	ATGCAAAGGC	AACTTATGAA	CTCGGGAAAG	AATTCCTTCC	AATGGAAATT	1620	
CAGCTTTCAA	GATTAGTTGG	ACAACCTTTA	TGGGATGTTT	CAAGGTCAAG	CACAGGGAAC	1680	5
CTTGTAGAGT	GGTTCTTACT	TAGGAAAGCC	TACGAAAGAA	ACGAAGTAGC	TCCAAACAAG	1740	
CCAAGTGAAG	AGGAGTATCA	AAGAAGGCTC	AGGGAGAGCT	ACACAGGTGG	ATTCGTGCGC	1800	10
CTGGACGTGG	CCTATCTCAG	GGCCTTGTC	CTGGAGGTGG	CCGAGGAGAT	CGCCCCCTC	1860	
GAGGCCGAGG	TCTTCCGCCT	GGCCGGCCAC	CCCTTCAACC	TCAACTCCCG	GGACCAGCTG	1920	15
GAAAGGGTCC	TCTTTGACGA	GCTAGGGCTT	CCCGCCATCG	GCAAGACGGA	GAAGACCGGC	1980	
AAGCGCTCCA	CCAGCGCCGC	CGTCCTGGAG	GCCCTCCGCG	AGGCCACCC	CATCGTGGAG	2040	20
AAGATCCTGC	AGTACCGGGA	GCTCACCAAG	CTGAAGAGCA	CCTACATTGA	CCCCTTGCCG	2100	
GACCTCATCC	ACCCAGGAC	GGGCCGCCTC	CACACCCGCT	TCAACCAGAC	GGCCACGGCC	2160	25
ACGGGCAGGC	TAAGTAGCTC	CGATCCCAAC	CTCCAGAACA	TCCCCGTCCG	CACCCGCTT	2220	
GGGCAGAGGA	TCCGCCGGGC	CTTCATCGCC	GAGGAGGGGT	GGCTATTGGT	GGCCCTGGAC	2280	30
TATAGCCAGA	TAGAGCTCAG	GGTGCTGGCC	CACCTCTCCG	GCGACGAGAA	CCTGATCCGG	2340	
GTCTTCCAGG	AGGGGCGGGA	CATCCACACG	GAGACGCCA	GCTGGATGTT	CGGCGTCCCC	2400	35
CGGGAGGCCG	TGGACCCCTT	GATGCGCCGG	GCGGCCAAGA	CCATCAACTT	CGGGGTCTC	2460	
TACGGCATGT	CGGCCACCG	CCTCTCCAG	GAGCTAGCCA	TCCCTTACGA	GGAGGCCAG	2520	40
GCCTTCATTG	AGCGCTACTT	TCAGAGCTTC	CCCAAGGTGC	GGGCCTGGAT	TGAGAAGACC	2580	
CTGGAGGAGG	GCAGGAGGCG	GGGTACGTG	GAGACCTCT	TCGGCCGCCG	CCGCTACGTG	2640	45
CCAGACCTAG	AGGCCCGGGT	GAAGAGCGTG	CGGGAGGCGG	CCGAGCGCAT	GGCCTTCAAC	2700	
ATGCCCGTCC	AGGGCACCGC	CGCCGACCTC	ATGAAGCTGG	CTATGGTGAA	GCTCTTCCCC	2760	50
AGGCTGGAGG	AAATGGGGGC	CAGGATGCTC	CTTCAGGTCC	ACGACGAGCT	GGTCCTCGAG	2820	
GCCCCAAAAG	AGAGGGCGGA	GGCCGTGGCC	CGGCTGGCCA	AGGAGGTCAT	GGAGGGGGTG	2880	55
TATCCCCTGG	CGTGCCCTT	GGAGGTGGAG	GTGGGGATAG	GGGAGGACTG	GCTCTCCGCC	2940	
AAGGAGTGA						2949	60

65

# DE 198 10 879 A 1

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

### (i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

### (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

### (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
50 55 60

Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
65 70 75 80

Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
85 90 95

Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
100 105 110

Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
115 120 125

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
145 150 155 160

Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
165 170 175

Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
180 185 190

Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
195 200 205

# DE 198 10 879 A 1

Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu		
210						215					220						
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg		
225					230					235					240		
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu		
				245					250					255			
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu		
			260					265					270				
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala		
	275						280					285					
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu		
290						295					300						
Leu	Glu	Ser	Pro	Tyr	Asp	Asn	Tyr	Val	Thr	Ile	Leu	Asp	Glu	Glu	Thr		
305					310					315					320		
Leu	Lys	Ala	Trp	Ile	Ala	Lys	Leu	Glu	Lys	Ala	Pro	Val	Phe	Ala	Phe		
				325					330					335			
Asp	Thr	Glu	Thr	Asp	Ser	Leu	Asp	Asn	Ile	Ser	Ala	Asn	Leu	Val	Gly		
			340					345					350				
Leu	Ser	Phe	Ala	Ile	Glu	Pro	Gly	Val	Ala	Ala	Tyr	Ile	Pro	Val	Ala		
		355					360					365					
His	Asp	Tyr	Leu	Asp	Ala	Pro	Asp	Gln	Ile	Ser	Arg	Glu	Arg	Ala	Leu		
370						375					380						
Glu	Leu	Leu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Asp	Glu	Lys	Ala	Leu	Lys	Val	Gly		
385					390					395					400		
Gln	Asn	Leu	Lys	Tyr	Asp	Arg	Gly	Ile	Leu	Ala	Asn	Tyr	Gly	Ile	Glu		
				405					410					415			
Leu	Arg	Gly	Ile	Ala	Phe	Asp	Thr	Met	Leu	Glu	Ser	Tyr	Ile	Leu	Asn		
			420					425					430				
Ser	Val	Ala	Gly	Arg	His	Asp	Met	Asp	Ser	Leu	Ala	Glu	Arg	Trp	Leu		
		435					440					445					
Lys	His	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Glu	Glu	Ile	Ala	Gly	Lys	Gly	Lys	Asn		
450						455					460						
Gln	Leu	Thr	Phe	Asn	Gln	Ile	Ala	Leu	Glu	Glu	Ala	Gly	Arg	Tyr	Ala		
465					470					475					480		

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# DE 198 10 879 A 1

Ala Glu Asp Ala Asp Val Thr Leu Gln Leu His Leu Lys Met Trp Pro  
485 490 495

5 Asp Leu Gln Lys His Glu Arg Leu Leu Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu  
500 505 510

10 Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His Met Glu Ala Thr Gly Val Arg  
515 520 525

15 Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu  
530 535 540

20 Val Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe  
545 550 555 560

25 Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu  
565 570 575

30 Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr  
580 585 590

35 Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu  
595 600 605

40 Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile  
610 615 620

45 Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr  
625 630 635 640

50 Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp  
645 650 655

55 Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile  
660 665 670

60 Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp  
675 680 685

65 Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu  
690 695 700

70 Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr  
705 710 715 720

75 Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met  
725 730 735

80 Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser  
740 745 750

85

# DE 198 10 879 A 1

Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln	
755 760 765	
Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp	5
770 775 780	
Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr	10
785 790 795 800	
Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys	15
805 810 815	
Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln	
820 825 830	
Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro	20
835 840 845	
Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu	25
850 855 860	
Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu	30
865 870 875 880	
Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu	
885 890 895	
Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu	35
900 905 910	

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 910 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp	55
1 5 10 15	
Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu	60
20 25 30	
Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys	65
35 40 45	

# DE 198 10 879 A 1

Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
 50 55 60  
 5 Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
 65 70 75 80  
 10 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
 85 90 95  
 Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
 100 105 110  
 15 Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
 115 120 125  
 20 Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
 130 135 140  
 25 Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
 165 170 175  
 30 Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
 180 185 190  
 35 Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
 195 200 205  
 40 Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 45 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 50 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 55 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 60 Leu Glu Ser Pro Tyr Asp Asn Tyr Val Thr Ile Leu Asp Glu Glu Thr  
 305 310 315 320  
 65

# DE 198 10 879 A 1

Leu Lys Ala Trp	Ile Ala Lys Leu Glu Lys Ala Pro Val Phe Ala Phe	
325	330	335
Asp Thr Glu Thr Asp Ser Leu Asp Asn Ile Ser Ala Asn Leu Val Gly		5
340	345	350
Leu Ser Phe Ala Ile Glu Pro Gly Val Ala Ala Tyr Ile Pro Val Ala		10
355	360	365
His Asp Tyr Leu Asp Ala Pro Asp Gln Ile Ser Arg Glu Arg Ala Leu		15
370	375	380
Glu Leu Leu Lys Pro Leu Leu Glu Asp Glu Lys Ala Leu Lys Val Gly		
385	390	395
Gln Asn Leu Lys Tyr Asp Arg Gly Ile Leu Ala Asn Tyr Gly Ile Glu		20
405	410	415
Leu Arg Gly Ile Ala Phe Asp Thr Met Leu Glu Ser Tyr Ile Leu Asn		25
420	425	430
Ser Val Ala Gly Arg His Asp Met Asp Ser Leu Ala Glu Arg Trp Leu		30
435	440	445
Lys His Lys Thr Ile Thr Phe Glu Glu Ile Ala Gly Lys Gly Lys Asn		
450	455	460
Gln Leu Thr Phe Asn Gln Ile Ala Leu Glu Glu Ala Gly Arg Tyr Ala		35
465	470	475
Ala Glu Asp Ala Asp Val Thr Leu Gln Leu His Leu Lys Met Trp Pro		40
485	490	495
Asp Leu Gln Lys His Lys Gly Pro Leu Asn Val Phe Glu Asn Ile Glu		45
500	505	510
Met Pro Leu Val Pro Val Leu Ser Arg Ile Glu Arg Asn Gly Val Arg		
515	520	525
Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu		50
530	535	540
Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe		55
545	550	555
Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu		60
565	570	575
Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr		
580	585	590

65

# DE 198 10 879 A 1

Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu  
 595 600 605  
 5 Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile  
 610 615 620  
 10 Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr  
 625 630 635 640  
 Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp  
 645 650 655  
 15 Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile  
 660 665 670  
 20 Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp  
 675 680 685  
 25 Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu  
 690 695 700  
 Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr  
 705 710 715 720  
 30 Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met  
 725 730 735  
 35 Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser  
 740 745 750  
 40 Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln  
 755 760 765  
 Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp  
 770 775 780  
 45 Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr  
 785 790 795 800  
 50 Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys  
 805 810 815  
 55 Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln  
 820 825 830  
 Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro  
 835 840 845  
 60 Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu  
 850 855 860  
 65



# DE 198 10 879 A 1

Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu  
865 870 875 880

Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu  
885 890 895

Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
900 905 910

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 908 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
50 55 60

Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
65 70 75 80

Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
85 90 95

Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
100 105 110

Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
115 120 125

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
145 150 155 160

# DE 198 10 879 A 1

	Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu	
					165					170					175		
5	Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg	
				180					185					190			
10	Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp	
			195					200					205				
	Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu	
15		210					215					220					
	Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg	
	225					230					235					240	
20	Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu	
					245					250					255		
25	Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu	
				260					265					270			
	Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala	
30			275					280					285				
	Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu	
		290					295					300					
35	Leu	Glu	Ser	Pro	Pro	Val	Gly	Tyr	Arg	Ile	Val	Lys	Asp	Leu	Val	Glu	
	305					310					315					320	
40	Phe	Glu	Lys	Leu	Ile	Glu	Lys	Leu	Arg	Glu	Ser	Pro	Ser	Phe	Ala	Ile	
					325					330					335		
	Asp	Leu	Glu	Thr	Ser	Ser	Leu	Asp	Pro	Phe	Asp	Cys	Asp	Ile	Val	Gly	
45				340					345					350			
	Ile	Ser	Val	Ser	Phe	Lys	Pro	Lys	Glu	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Pro	Leu	His	
			355					360					365				
50	His	Arg	Asn	Ala	Gln	Asn	Leu	Asp	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Lys	Lys	Leu	
		370					375					380					
	Lys	Glu	Ile	Leu	Glu	Asp	Pro	Gly	Ala	Lys	Ile	Val	Gly	Gln	Asn	Leu	
55		385				390					395					400	
	Lys	Phe	Asp	Tyr	Lys	Val	Leu	Met	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Pro	Val	Pro	
60					405					410					415		
	Pro	His	Phe	Asp	Thr	Met	Ile	Ala	Ala	Tyr	Leu	Leu	Glu	Pro	Asn	Glu	
				420				425						430			
65																	

# DE 198 10 879 A 1

Lys	Lys	Phe	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Ala	Leu	Lys	Phe	Leu	Gly	Tyr	Lys		
		435					440					445					
Met	Thr	Ser	Tyr	Gln	Glu	Leu	Met	Ser	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Phe	Gly		5
	450					455					460						
Phe	Ser	Phe	Ala	Asp	Val	Pro	Val	Glu	Lys	Ala	Ala	Asn	Tyr	Ser	Cys		10
465					470					475					480		
Glu	Asp	Ala	Asp	Ile	Thr	Tyr	Arg	Leu	Tyr	Lys	Ile	Leu	Ser	Leu	Lys		15
				485					490					495			
Leu	His	Glu	Glu	Arg	Leu	Leu	Trp	Leu	Tyr	Arg	Glu	Val	Glu	Arg	Pro		
			500					505					510				
Leu	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	His	Met	Glu	Ala	Thr	Gly	Val	Arg	Leu	Asp		20
		515					520					525					
Val	Ala	Tyr	Leu	Arg	Ala	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Ala	Glu	Glu	Ile	Ala		25
	530					535					540						
Arg	Leu	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	His	Pro	Phe	Asn	Leu		
545					550					555					560		30
Asn	Ser	Arg	Asp	Gln	Leu	Glu	Arg	Val	Leu	Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Leu		
				565					570					575			
Pro	Ala	Ile	Gly	Lys	Thr	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala		35
			580					585					590				
Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile		40
		595					600					605					
Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro		
	610					615					620						45
Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe		
625					630					635					640		
Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn		50
				645					650					655			
Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg		55
			660					665					670				
Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser		
		675					680					685					60
Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu		
	690					695					700						65

# DE 198 10 879 A 1

Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser  
705 710 715 720

5 Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg  
725 730 735

10 Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His  
740 745 750

Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe  
755 760 765

15 Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu  
770 775 780

20 Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe  
785 790 795 800

25 Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val  
805 810 815

Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr  
820 825 830

30 Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu  
835 840 845

35 Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val  
850 855 860

40 Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys  
865 870 875 880

Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu  
885 890 895

45 Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
900 905

50

55

60

65

# DE 198 10 879 A 1

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 908 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
50 55 60

Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
65 70 75 80

Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
85 90 95

Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
100 105 110

Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu  
115 120 125

Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys  
130 135 140

Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys  
145 150 155 160

Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu  
165 170 175

Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg  
180 185 190

Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp  
195 200 205

# DE 198 10 879 A 1

Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 5 Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg  
 225 230 235 240  
 10 Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu  
 245 250 255  
 Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu  
 260 265 270  
 15 Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala  
 275 280 285  
 20 Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu  
 290 295 300  
 25 Leu Glu Ser Pro Pro Val Gly Tyr Arg Ile Val Lys Asp Leu Val Glu  
 305 310 315 320  
 Phe Glu Lys Leu Ile Glu Lys Leu Arg Glu Ser Pro Ser Phe Ala Ile  
 325 330 335  
 30 Asp Leu Glu Thr Ser Ser Leu Asp Pro Phe Asp Cys Asp Ile Val Gly  
 340 345 350  
 35 Ile Ser Val Ser Phe Lys Pro Lys Glu Ala Tyr Tyr Ile Pro Leu His  
 355 360 365  
 40 His Arg Asn Ala Gln Asn Leu Asp Glu Lys Glu Val Leu Lys Lys Leu  
 370 375 380  
 Lys Glu Ile Leu Glu Asp Pro Gly Ala Lys Ile Val Gly Gln Asn Leu  
 385 390 395 400  
 45 Lys Phe Asp Tyr Lys Val Leu Met Val Lys Gly Val Glu Pro Val Pro  
 405 410 415  
 50 Pro His Phe Asp Thr Met Ile Ala Ala Tyr Leu Leu Glu Pro Asn Glu  
 420 425 430  
 55 Lys Lys Phe Asn Leu Asp Asp Leu Ala Leu Lys Phe Leu Gly Tyr Lys  
 435 440 445  
 Met Thr Ser Tyr Gln Glu Leu Met Ser Phe Ser Ser Pro Leu Phe Gly  
 450 455 460  
 60 Phe Ser Phe Ala Asp Val Pro Val Glu Lys Ala Ala Asn Tyr Ser Cys  
 465 470 475 480  
 65

# DE 198 10 879 A 1

Glu Asp Ala Asp Ile Thr Tyr Arg Leu Tyr Lys Ile Leu Ser Leu Lys	
485 490 495	
Leu His Glu Ala Asp Leu Glu Asn Val Phe Tyr Lys Ile Glu Met Pro	5
500 505 510	
Leu Val Ser Val Leu Ala Arg Met Glu Leu Asn Gly Val Arg Leu Asp	10
515 520 525	
Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala	15
530 535 540	
Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu	
545 550 555 560	
Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu	20
565 570 575	
Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala	25
580 585 590	
Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile	30
595 600 605	
Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro	
610 615 620	
Leu Pro Asp Leu Ile His Pro Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe	35
625 630 635 640	
Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn	40
645 650 655	
Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg	45
660 665 670 /	
Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser	
675 680 685	
Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu	50
690 695 700	
Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser	55
705 710 715 720	
Trp Met Phe Gly Val Pro Arg Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg	
725 730 735	
Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His	60
740 745 750	

65

# DE 198 10 879 A 1

Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe  
755 760 765

5 Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu  
770 775 780

10 Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe  
785 790 795 800

Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val  
805 810 815

15 Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr  
820 825 830

20 Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu  
835 840 845

25 Glu Glu Met Gly Ala Arg Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val  
850 855 860

30 Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys  
865 870 875 880

Glu Val Met Glu Gly Val Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu  
885 890 895

35 Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
900 905

40 (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 949 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear

50 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

55 Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

60 Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

65



# DE 198 10 879 A 1

Gly	Leu	Thr	Thr	Ser	Arg	Gly	Glu	Pro	Val	Gln	Ala	Val	Tyr	Gly	Phe		
50						55				60							
Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Gly	Asp	Ala	Val	Ile		5
65					70				75						80		
Val	Val	Phe	Asp	Ala	Lys	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Ala	Tyr	Gly		10
				85					90					95			
Gly	Tyr	Lys	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe	Pro	Arg	Gln		15
			100					105					110				
Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Glu	Leu	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg	Leu		
	115						120					125					
Glu	Val	Pro	Gly	Tyr	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Leu	Ala	Ser	Leu	Ala	Lys		20
	130					135					140						
Lys	Ala	Glu	Lys	Glu	Gly	Tyr	Glu	Val	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys		25
145					150					155					160		
Asp	Leu	Tyr	Gln	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Ile	His	Val	Leu	His	Pro	Glu		
			165						170					175			30
Gly	Tyr	Leu	Ile	Thr	Pro	Ala	Trp	Leu	Trp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Leu	Arg		
		180						185					190				
Pro	Asp	Gln	Trp	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Glu	Ser	Asp		35
		195					200					205					
Asn	Leu	Pro	Gly	Val	Lys	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Thr	Ala	Arg	Lys	Leu		40
	210					215					220						
Leu	Glu	Glu	Trp	Gly	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Lys	Asn	Leu	Asp	Arg		
225					230					235					240		45
Leu	Lys	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Leu	Ala	His	Met	Asp	Asp	Leu		
			245						250					255			
Lys	Leu	Ser	Trp	Asp	Leu	Ala	Lys	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Pro	Leu	Glu		50
			260					265					270				
Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Asp	Arg	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala		55
		275					280					285					
Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Glu	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	His	Glu	Phe	Gly	Leu		60
	290					295					300						
Leu	Glu	Ser	Pro	His	Pro	Ala	Val	Val	Asp	Ile	Phe	Glu	Tyr	Asp	Ile		
305					310					315					320		65

# DE 198 10 879 A 1

Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile Pro Met Glu  
 325 330 335  
 5 Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr Leu Tyr  
 340 345 350  
 10 His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met Ile Ser Tyr  
 355 360 365  
 Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn Ile Asp Leu  
 370 375 380  
 15 Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile Lys Arg Phe  
 385 390 395 400  
 20 Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val Thr Tyr Asn  
 405 410 415  
 25 Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala Glu Lys Leu  
 420 425 430  
 Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys Met Gln  
 435 440 445  
 30 Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile His Phe  
 450 455 460  
 35 Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr Tyr Thr  
 465 470 475 480  
 40 Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys Glu Lys Val  
 485 490 495  
 Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu Asn Leu Glu  
 500 505 510  
 45 Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr Tyr Glu Leu  
 515 520 525  
 50 Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu Ser Glu Arg Leu Leu  
 530 535 540  
 55 Trp Leu Tyr Arg Glu Val Glu Arg Pro Leu Ser Ala Val Leu Ala His  
 545 550 555 560  
 Met Glu Ala Thr Gly Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala Leu  
 565 570 575  
 60 Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val Phe  
 580 585 590  
 65

# DE 198 10 879 A 1

Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu Glu	
595 600 605	
Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr Glu	5
610 615 620	
Lys Thr Gly Lys Arg Ser Thr Ser Ala Ala Val Leu Glu Ala Leu Arg	10
625 630 635 640	
Glu Ala His Pro Ile Val Glu Lys Ile Leu Gln Tyr Arg Glu Leu Thr	15
645 650 655	
Lys Leu Lys Ser Thr Tyr Ile Asp Pro Leu Pro Asp Leu Ile His Pro	
660 665 670	
Arg Thr Gly Arg Leu His Thr Arg Phe Asn Gln Thr Ala Thr Ala Thr	20
675 680 685	
Gly Arg Leu Ser Ser Ser Asp Pro Asn Leu Gln Asn Ile Pro Val Arg	25
690 695 700	
Thr Pro Leu Gly Gln Arg Ile Arg Arg Ala Phe Ile Ala Glu Glu Gly	30
705 710 715 720	
Trp Leu Leu Val Ala Leu Asp Tyr Ser Gln Ile Glu Leu Arg Val Leu	
725 730 735	
Ala His Leu Ser Gly Asp Glu Asn Leu Ile Arg Val Phe Gln Glu Gly	35
740 745 750	
Arg Asp Ile His Thr Glu Thr Ala Ser Trp Met Phe Gly Val Pro Arg	40
755 760 765	
Glu Ala Val Asp Pro Leu Met Arg Arg Ala Ala Lys Thr Ile Asn Phe	45
770 775 780	
Gly Val Leu Tyr Gly Met Ser Ala His Arg Leu Ser Gln Glu Leu Ala	
785 790 795 800	
Ile Pro Tyr Glu Glu Ala Gln Ala Phe Ile Glu Arg Tyr Phe Gln Ser	50
805 810 815	
Phe Pro Lys Val Arg Ala Trp Ile Glu Lys Thr Leu Glu Glu Gly Arg	55
820 825 830	
Arg Arg Gly Tyr Val Glu Thr Leu Phe Gly Arg Arg Arg Tyr Val Pro	60
835 840 845	
Asp Leu Glu Ala Arg Val Lys Ser Val Arg Glu Ala Ala Glu Arg Met	65
850 855 860	

# DE 198 10 879 A 1

Ala Phe Asn Met Pro Val Gln Gly Thr Ala Ala Asp Leu Met Lys Leu  
865 870 875 880

5 Ala Met Val Lys Leu Phe Pro Arg Leu Glu Glu Met Gly Ala Arg Met  
885 890 895

10 Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu Arg  
900 905 910

Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val Tyr  
915 920 925

15 Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp Trp  
930 935 940

20 Leu Ser Ala Lys Glu  
945

25 (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
30 (A) LÄNGE: 982 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
(D) TOPOLOGIE: linear

35 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

40 Met Arg Gly Ser His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

45 Lys Met Arg Gly Met Leu Pro Leu Phe Glu Pro Lys Gly Arg Val Leu  
20 25 30

Leu Val Asp Gly His His Leu Ala Tyr Arg Thr Phe His Ala Leu Lys  
35 40 45

50 Gly Leu Thr Thr Ser Arg Gly Glu Pro Val Gln Ala Val Tyr Gly Phe  
50 55 60

55 Ala Lys Ser Leu Leu Lys Ala Leu Lys Glu Asp Gly Asp Ala Val Ile  
65 70 75 80

60 Val Val Phe Asp Ala Lys Ala Pro Ser Phe Arg His Glu Ala Tyr Gly  
85 90 95

Gly Tyr Lys Ala Gly Arg Ala Pro Thr Pro Glu Asp Phe Pro Arg Gln  
100 105 110

65

# DE 198 10 879 A 1

Leu Ala Leu Ile Lys Glu Leu Val Asp Leu Leu Gly Leu Ala Arg Leu	
115 120 125	
Glu Val Pro Gly Tyr Glu Ala Asp Asp Val Leu Ala Ser Leu Ala Lys	5
130 135 140	
Lys Ala Glu Lys Glu Gly Tyr Glu Val Arg Ile Leu Thr Ala Asp Lys	10
145 150 155 160	
Asp Leu Tyr Gln Leu Leu Ser Asp Arg Ile His Val Leu His Pro Glu	15
165 170 175	
Gly Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Trp Leu Trp Glu Lys Tyr Gly Leu Arg	
180 185 190	
Pro Asp Gln Trp Ala Asp Tyr Arg Ala Leu Thr Gly Asp Glu Ser Asp	20
195 200 205	
Asn Leu Pro Gly Val Lys Gly Ile Gly Glu Lys Thr Ala Arg Lys Leu	25
210 215 220	
Leu Glu Glu Trp Gly Ser Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Asp Arg	30
225 230 235 240	
Leu Lys Pro Ala Ile Arg Glu Lys Ile Leu Ala His Met Asp Asp Leu	
245 250 255	
Lys Leu Ser Trp Asp Leu Ala Lys Val Arg Thr Asp Leu Pro Leu Glu	35
260 265 270	
Val Asp Phe Ala Lys Arg Arg Glu Pro Asp Arg Glu Arg Leu Arg Ala	40
275 280 285	
Phe Leu Glu Arg Leu Glu Phe Gly Ser Leu Leu His Glu Phe Gly Leu	45
290 295 300	
Leu Glu Ser Pro Val Arg Glu His Pro Ala Val Val Asp Ile Phe Glu	
305 310 315 320	
Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Ile	50
325 330 335	
Pro Met Glu Gly Glu Glu Glu Leu Lys Ile Leu Ala Phe Asp Ile Glu	55
340 345 350	
Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Gly Lys Gly Pro Ile Ile Met	60
355 360 365	
Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Asn Glu Ala Lys Val Ile Thr Trp Lys Asn	65
370 375 380	

# DE 198 10 879 A 1

Ile Asp Leu Pro Tyr Val Glu Val Val Ser Ser Glu Arg Glu Met Ile  
385 390 395 400

5 Lys Arg Phe Leu Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Pro Asp Ile Ile Val  
405 410 415

10 Thr Tyr Asn Gly Asp Ser Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Ala Lys Arg Ala  
420 425 430

Glu Lys Leu Gly Ile Lys Leu Thr Ile Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro  
15 435 440 445

Lys Met Gln Arg Ile Gly Asp Met Thr Ala Val Glu Val Lys Gly Arg  
450 455 460

20 Ile His Phe Asp Leu Tyr His Val Ile Thr Arg Thr Ile Asn Leu Pro  
465 470 475 480

25 Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Ile Phe Gly Lys Pro Lys  
485 490 495

Glu Lys Val Tyr Ala Asp Glu Ile Ala Lys Ala Trp Glu Ser Gly Glu  
30 500 505 510

Asn Leu Glu Arg Val Ala Lys Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Ala Thr  
515 520 525

35 Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ile Gln Leu Ser Arg  
530 535 540

40 Leu Val Gly Gln Pro Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn  
545 550 555 560

Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Val  
45 565 570 575

Ala Pro Asn Lys Pro Ser Glu Glu Glu Tyr Gln Arg Arg Leu Arg Glu  
580 585 590

50 Ser Tyr Thr Gly Gly Phe Val Arg Leu Asp Val Ala Tyr Leu Arg Ala  
595 600 605

Leu Ser Leu Glu Val Ala Glu Glu Ile Ala Arg Leu Glu Ala Glu Val  
55 610 615 620

Phe Arg Leu Ala Gly His Pro Phe Asn Leu Asn Ser Arg Asp Gln Leu  
60 625 630 635 640

Glu Arg Val Leu Phe Asp Glu Leu Gly Leu Pro Ala Ile Gly Lys Thr  
645 650 655

65

# DE 198 10 879 A 1

Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Ser	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Leu		
			660					665					670				
Arg	Glu	Ala	His	Pro	Ile	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Gln	Tyr	Arg	Glu	Leu	5	
		675					680					685					
Thr	Lys	Leu	Lys	Ser	Thr	Tyr	Ile	Asp	Pro	Leu	Pro	Asp	Leu	Ile	His	10	
		690				695					700						
Pro	Arg	Thr	Gly	Arg	Leu	His	Thr	Arg	Phe	Asn	Gln	Thr	Ala	Thr	Ala	15	
705					710					715					720		
Thr	Gly	Arg	Leu	Ser	Ser	Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Val		
				725					730					735			
Arg	Thr	Pro	Leu	Gly	Gln	Arg	Ile	Arg	Arg	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu	20	
			740					745					750				
Gly	Trp	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Arg	Val	25	
		755					760					765					
Leu	Ala	His	Leu	Ser	Gly	Asp	Glu	Asn	Leu	Ile	Arg	Val	Phe	Gln	Glu	30	
		770				775					780						
Gly	Arg	Asp	Ile	His	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Trp	Met	Phe	Gly	Val	Pro		
785					790					795					800		
Arg	Glu	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Met	Arg	Arg	Ala	Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	35	
				805					810					815			
Phe	Gly	Val	Leu	Tyr	Gly	Met	Ser	Ala	His	Arg	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	40	
			820					825					830				
Ala	Ile	Pro	Tyr	Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Ile	Glu	Arg	Tyr	Phe	Gln	45	
		835					840					845					
Ser	Phe	Pro	Lys	Val	Arg	Ala	Trp	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Glu	Glu	Gly		
	850					855					860						
Arg	Arg	Arg	Gly	Tyr	Val	Glu	Thr	Leu	Phe	Gly	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	50	
865					870					875					880		
Pro	Asp	Leu	Glu	Ala	Arg	Val	Lys	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Ala	Glu	Arg	55	
				885					890					895			
Met	Ala	Phe	Asn	Met	Pro	Val	Gln	Gly	Thr	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	60	
			900					905					910				
Leu	Ala	Met	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Arg	Leu	Glu	Glu	Met	Gly	Ala	Arg		
		915					920					925					65

# DE 198 10 879 A 1

Met Leu Leu Gln Val His Asp Glu Leu Val Leu Glu Ala Pro Lys Glu  
930 935 940

5 Arg Ala Glu Ala Val Ala Arg Leu Ala Lys Glu Val Met Glu Gly Val  
945 950 955 960

10 Tyr Pro Leu Ala Val Pro Leu Glu Val Glu Val Gly Ile Gly Glu Asp  
965 970 975

Trp Leu Ser Ala Lys Glu  
980

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

20 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 66 Basenpaare  
(B) ART: Nucleotid  
(C) STRANGFORM: Einzelstrang  
25 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Sonstige Nucleinsäure  
(A) BESCHREIBUNG: /desc = "oligonucleotide"

30 (ix) MERKMAL:  
(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS  
(B) LÄGE: 1..66

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

GAA TTC ATG AGG GGC TCG CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCT GCT GAC GAT 48  
40 GAC GAT AAA ATG AGG GGC 66

## (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

45 (i) SEQUENZKENNZEICHEN:  
(A) LÄNGE: 20 Aminosäuren  
(B) ART: Aminosäure  
50 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein  
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

55 Met Arg Gly Ser His His His His His His Ala Ala Asp Asp Asp Asp  
1 5 10 15

60 Lys Met Arg Gly  
20

## Patentansprüche

65 1. Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmenten in der Polymerasenchimäre aktiv, sind und die Polymerasenchimäre 5'-3'-Polymeraseaktivität aufweist.



# DE 198 10 879 A 1

2. Polymerasenchimäre gemäß Anspruch 1 zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die erste oder die zweite Polymerase 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist und die Polymerasenchimäre sowohl 5'-3'-Polymeraseaktivität als auch 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweist.
3. Polymerasenchimäre gemäß Anspruch oder 2, wobei die Aminosäurefragmente jeweils Polymerasendomänen der ersten oder zweiten Polymerase entsprechen.
4. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1, 2 oder 3, wobei die erste oder die zweite Polymerase die Taq DNA Polymerase ist.
5. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Polymerase eine Pol-I-Typ-Polymerase ist.
6. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Polymerase eine Pol-II-Typ-Polymerase ist.
7. Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei in die Aminosäuresequenz der Chimäre Histi-  
din-tags eingebaut wurden.
8. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7.
9. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 1.
10. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre, gemäß SEQ.ID.No 2.
11. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 3.
12. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 4.
13. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 5.
14. DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ.ID.No 6.
15. Vektor enthaltend eine DNA-Sequenz gemäß der Ansprüche 8 bis 14.
16. Transformierte Zelle die den Vektor gemäß Anspruch 15 enthält.
17. Verfahren zur Herstellung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren die folgenden Schritte umfaßt:
  - Planung von Varianten mit Hilfe von Aminosäuresequenzalignments, von 3D-Modellen oder mit Hilfe von experimentell ermittelten 3D-Strukturen
  - gentechnische Herstellung der Domänenaustauschvarianten
  - Legierung der DNA-Fragmente in Ausgangsvektoren
  - Expression der Chimären, in einem Wirt, der durch DNA-Fragment tragenden Vektoren transformiert wurde
  - Aufreinigung der exprimierten Polymerasenchimäre
18. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7 zur PCR.
19. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß Anspruch 1 zur Sequenzierung von DNA-Fragmenten.
20. Verwendung der Polymerasenchimären gemäß Anspruch 1 zur RT-PCR ausgehend von einem RNA-template.
21. Kit enthaltend eine Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7.

Hierzu 22 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

**Abbildung 1/1**  
**SEQ ID No.: 1**

**DNA-Sequenz:**

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCTGGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCC ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA
951 TGAAGAAACA CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA GCGCCGGTAT
1001 TTGCATTGA TACCGAAACC GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG
1051 GTCGGGCTTT CTTTGTCTAT CGAGCCAGGC GTAGCGGCAT ATATTCCGGT
1101 TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCGATCA AATCTCTCGC GAGCTGCAC
1151 TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGTCTGGG
1201 CAAAACCTGA AATACGATCG CGGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT
1251 GCGTGGGATT GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG
1301 TTGCCGGGCG TCACGATATG GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC
1351 AAAACCATCA CTTTTGAAGA GATTGCTGGT AAAGGCAAAA ATCAACTGAC
1401 CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC GCCGAAGATG
1451 CAGATGTAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA
1501 CACGAGAGGC TCCTTTGGCT TTACCGGGAG GTGGAGAGGC CCTTTTCCGC
1551 TGTCCTGGCC CACATGGAGG CCACGGGGGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC
1601 TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG GTGGCCGAGG AGGTCGCCCC CCTCGAGGCC
1651 GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC AACCTCAACT CCCGGGACCA
1701 GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC ATCGGCAAGA
1751 CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCTT GGAGGCCCTC
1801 CGCGAGGCCC ACCCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC
1851 CAAGCTGAAG AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA
1901 GGACGGGCGG CCTCCACACC CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC
1951 AGGCTAAGTA GTCCTGATCC CAACCTCCAG AACATCCCCG TCCGCACCCC
2001 GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG GGGTGGCTAT
2051 TGGTGGCCCT GGACTATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC
2101 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA
2151 CACGGAGACC GCCAGCTGGA GTTTCGGCGT CCCCCGGGAG GCCGTGGACC
2201 CCCTGATGCG CCGGGCGGCC AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC
2251 ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA GCCATCCCTT ACGAGGAGGC
2301 CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCCAAG GTGCGGGCCT
2351 GGATTGAGAA GACCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGGTA CGTGGAGACC
2401 CTCTCGGCC GCGGCCGTA CTGCCAGAC CTAGAGGCC GGTGAAGAG
2451 CGTGGCGGAG GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCC GTCCAGGGCA
2501 CCGCCGCCGA CCTCATGAAG CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG

```

## Abbildung 1/2

SEQ ID No.: 1

```

2551 GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG GTCCACGACG AGCTGGTCCT
2601 CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG GCCAAGGAGG
2651 TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG
2701 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA

```

SEQ ID No.: 7

## Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEPVQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRILTADK DLYQLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESNDL PGVKGIGECT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESYPD NYVTILDEET LKAWIAKLEK APVFAFDTET DSLDNISANL
351 VGLSFAIEPG VAAYIPVAHD YLDAPDQISR ERALELLKPL LEDEKALKVG
401 QNLKYDRGIL ANYGIELRGI AFDIMLESYI LNSVAGRHDH DSLAERWLKH
451 KTITFEEIAG KGKNQLTFNQ IALEEAGRYA AEDADVTLOL HLKMWPDLOK
501 HERLLWLYRE VERPLSAVLA HMEATGVRLD VAYLRALSLE VAEVARLEA
551 EVFRLAGHPF NLNSRDQLER VLFDELGLPA IGKTEKTGKR STSAAVLEAL
601 REAHPIVEKI LQYRELTKLK STYIDPLPDL IHPRTGRLHT RFNQATATATG
651 RLSSSDPNLQ NIPVRTPLGQ RIRRAFIAEE GWLLVALDYS QIELRVLAHL
701 SGDENLIRVF QEGRDIHTET ASWMFGVPRE AVDPLMRRAA KTINFGVLYG
751 MSAHRLSQEL AIPYEEAQAF IERYFQSFPK VRAWIEKTLE EGRRRGYVET
801 LFGRRRYVPD LEARVKSURE AAERMAFNMP VQGTADLMK LAMVKLFPRL
851 EEMGARMLLQ VHDELVLEAP KERAEEAVARL AKEVMEGVYP LAVPLEVEVG
901 IGEDWLSAKE

```

## Abbildung 2/1

SEQ ID No.: 2

## DNA-Sequenz:

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCTGGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCTATGAC AACTACGTCA CCATCCTTGA
951 TGAAGAAACA CTGAAAGCGT GGATTGCGAA GCTGGAAAAA CGCCCGGTAT
1001 TTGCATTTGA TACCGAAACC GACAGCCTTG ATAACATCTC TGCTAACCTG
1051 GTCGGGCTTT CTTTTGCTAT CGAGCCAGGC GTAGCGGCAT ATATTCCGGT
1101 TGCTCATGAT TATCTTGATG CGCCCAGTCA AATCTCTCGC GAGCGTGCAC
1151 TCGAGTTGCT AAAACCGCTG CTGGAAGATG AAAAGGCGCT GAAGGTCTGGG
1201 CAAAACCTGA AATACGATCG CCGTATTCTG GCGAACTACG GCATTGAACT
1251 GCGTGGGATT GCGTTTGATA CCATGCTGGA GTCCTACATT CTCAATAGCG
1301 TTGCCGGGCG TCACGATATG GACAGCCTCG CGGAACGTTG GTTGAAGCAC
1351 AAAACCATCA CTTTGAAGA GATTGCTGGT AAAGGCAAAA ATCAACTGAC
1401 CTTTAACCAG ATTGCCCTCG AAGAAGCCGG ACGTTACGCC CCGGAAGATG
1451 CAGATGTCAC CTTGCAGTTG CATCTGAAAA TGTGGCCGGA TCTGCAAAAA
1501 CACAAAGGGC CGTTGAACGT CTTGAGAAT ATCGAAATGC CGCTGGTGCC
1551 GGTGCTTTCA CGCATTTGAA GTAACGGTGT GCGCCTGGAC GTGGCCTATC
1601 TCAGGGCCTT GTCCCTGGAG GTGGCCGAGG AGATCGCCCG CCTCGAGGCC
1651 GAGGTCTTCC GCCTGGCCGG CCACCCCTTC AACCTCAACT CCCGGGACCA
1701 GCTGGAAAGG GTCCTCTTTG ACGAGCTAGG GCTTCCCGCC ATCGGCAAGA
1751 CGGAGAAGAC CGGCAAGCGC TCCACCAGCG CCGCCGTCTT GGAGGCCCTC
1801 CGCGAGGCCC ACCCATCGT GGAGAAGATC CTGCAGTACC GGGAGCTCAC
1851 CAAGCTGAAG AGCACCTACA TTGACCCCTT GCCGGACCTC ATCCACCCCA
1901 GGACGGGCCG CCTCCACACC CGCTTCAACC AGACGGCCAC GGCCACGGGC
1951 AGGCTAAGTA GCTCCGATCC CAACCTCCAG AACATCCCCG TCCGCACCCC
2001 GCTTGGGCAG AGGATCCGCC GGGCCTTCAT CGCCGAGGAG GGGTGGCTAT
2051 TGGTGGCCCT GGAATATAGC CAGATAGAGC TCAGGGTGCT GGCCACCTC
2101 TCCGGCGACG AGAACCTGAT CCGGGTCTTC CAGGAGGGGC GGGACATCCA
2151 CACGGAGACC GCCAGCTGGA TGTTGCGCGT CCCCCGGGAG GCEGTGGACC
2201 CCCTGATGCG CCGGGCGGCC AAGACCATCA ACTTCGGGGT CCTCTACGGC
2251 ATGTCGGCCC ACCGCCTCTC CCAGGAGCTA GCCATCCCTT ACGAGGAGGC
2301 CCAGGCCTTC ATTGAGCGCT ACTTTCAGAG CTTCCCAAG GTGCGGGCCT
2351 GGATTGAGAA GACCTGGAG GAGGGCAGGA GGCGGGGTA CGTGAGACC
2401 CTCTTCGGCC GCCGCCGCTA CGTGCCAGAC CTAGAGGCCC GGGTGAAGAG
2451 CGTGCGGGAG GCGGCCGAGC GCATGGCCTT CAACATGCCC GTCCAGGGCA
2501 CCGCCGCCGA CCTCATGAAG CTGGCTATGG TGAAGCTCTT CCCCAGGCTG

```

## Abbildung 2/2

SEQ ID No.: 2

```

2551 GAGGAAATGG GGGCCAGGAT GCTCCTTCAG GTCCACGACG AGCTGGTCCT
2601 CGAGGCCCCA AAAGAGAGGG CGGAGGCCGT GGCCCGGCTG GCCAAGGAGG
2651 TCATGGAGGG GGTGTATCCC CTGGCCGTGC CCCTGGAGGT GGAGGTGGGG
2701 ATAGGGGAGG ACTGGCTCTC CGCCAAGGAG TGA

```

SEQ ID No.: 8

## Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEPVQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSE RHEAYGGYKA
101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIITADK DLYQLLSMRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIRÉKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESFYD NYVTILDEET LKAWIAKLEK APVFAFDTET DSLDNISANL
351 VGLSFAIEPG VAAYIPVAHD YLDAPDQISR ERALELLKPL LEDEKALKVG
401 QNLKYDRGIL ANYGIELRGI AFDTMLESYI LNSVAGRHDH DSLAERWLKH
451 KTTTFEEIAG KGKNQLTFNQ IALEEAGRYA AEDADVTLQL HLKMWFDLQK
501 HKGPLNVFEN IEMPLVPVLS RIERNGVRID VAYLRALSLE VAEELARLEA
551 EVFRLAGHPF NLNSRDQLER VLFDELGLPA IGKTEKTGKR STSAAVLEAL
601 REAHPIVEKI LQYRELTKLK STYIDPLPDL IHPRTGRLHT RFNQATATATG
651 RLSSSDPNLQ NIPVRTPLGQ RIRRAFIAEE GWLLVALDYS QIELRVLAHL
701 SGDENLIRVF QEGRDIHTET ASWMFGVPRE AVDPLMRRRA KTFINFGVLYG
751 MSAHRLSQEL AIPYEEAQAF IERYFQSFPK VRAWIEKTLE EGRRRGYVET
801 LFGRRRYVPD LEARVKSVRE AAERMAFNMP VOGTAADLMK LAMVKLFPRL
851 EEMGARMLLQ VHDELVLEAP KERAFAVARL AKEVMEGVYP LAVPLEVEVG
901 IGEDWLSAKE

```

**Abbildung 3/1**  
**SEQ ID No.: 3**
**DNA-Sequenz:**

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCTGGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCTCTC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCTTTCTTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAGA
951 CCTGGTGGAA TTTGAAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT
1001 TCGGCATAGA TCTTGAGACG TCTTCCCTCG ATCCTTTTCA CTGCGACATT
1051 GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG GAAGCGTACT ACATACCACT
1101 CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT CTGAAAAAGC
1151 TAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAATTTG
1201 AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC
1251 TCACTTCGAC ACGATGATAG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA
1301 AGTTCAATCT GGACGATCTC GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC
1351 TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT
1401 TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT GAAGATGCCG
1451 ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAACT CCACGAGGAG
1501 AGGCTCCTTT GGCTTTACCG GGAGGTGGAG AGGCCCTTT CCGCTGTCTT
1551 GGCCACATG GAGGCCACGG GGGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG
1601 CCTTGTCCTT GGAGGTGGCC GAGGAGATCG CCCGCTCGA GGCCGAGGTC
1651 TTCCGCTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC AACTCCCGGG ACCAGCTGGA
1701 AAGGGTCTTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC AAGACGGAGA
1751 AGACCGCAA GCGCTCCACC AGCGCCGCGG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG
1801 GCCCACCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT
1851 GAAGAGCACC TACATTGACC CTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG
1901 GCCGCTCCA CACCCGCTTC AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA
1951 AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC CCCGTCCGCA CCCCCTTGG
2001 GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG CTATTGGTGG
2051 CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC
2101 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA
2151 GACCGCCAGC TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA
2201 TGCGCCGGGC GGCCAAGACC ATCAACTTCG GGGTCTCTA CGGCATGTCG
2251 GCCCACCACC TCTCCAGGA GCTAGCCATC CTTACGAGG AGGCCAGGC
2301 GTTCATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG CCCTGGATTG
2351 AGAAGACCTT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCTCTTTC
2401 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG
2451 GGAGGCGGCC GAGCGCATGG CCTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG
2501 CCGACCTCAT GAAGCTGGCT ATGGTGAAGC TCTTCCCAG GCTGGAGGAA

```

**Abbildung 3/2**  
**SEQ ID No.: 3**

2551 ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC GACGAGCTGG TCCTCGAGGC  
 2601 CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG GAGGTCATGG  
 2651 AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTGCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG  
 2701 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA

**SEQ ID No.: 9**

**Aminosäuresequenz:**

1 MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL  
 51 TTSRGEPVQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA  
 101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG  
 151 YEVRILTADK DLYQLLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR  
 201 ALTGDESDNL PGVKGIGEXT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL  
 251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH  
 301 EFGLLESPPV GYRIVKDLVE FEKLIEKLRE SPSFAIDLET SSLDPFDCDI  
 351 VGISVSFKPK EAYYIPLHR NAQNLDEKEV LKKLKEILED PGAKIVGQNL  
 401 KFDYKVLVVK GVEPVPPHFD TMIAAYLLEP NEKKFNLDDL ALKFLGYKMT  
 451 SYQELMSFSS PLFGFSFADV FVEKAANYSC EDADITYRLY KILSLKLHEE  
 501 RLLWLYREVE RPLSAVLAHM EATGVRLDVA YLRALSLEVA EEIARLEAEV  
 551 FRLAGHPFNL NSRDQLERVL FDELGLPAIG KTEKTGKRST SAAVLEALRE  
 601 AHPIVEKILQ YRELTCLKST YIDPLPDLIH PRTGRLHTRF NQTATATGRL  
 651 SSSDPNLQNI PVRTPLGQRI RRAFIAEEGW LLVALDYSQI ELRVLAHLG  
 701 DENLIRVFQE GRDIHTETAS WMFGVPREAV DPLMRRAKT INFGVLYGMS  
 751 AHRLSQELAI PYEEAQAFIE RYFQSFPKVR AWIEKTLEEG RRRGYVETLF  
 801 GRRRYVPDLE ARVKSUREAA ERMAFNMPVQ GTAADLMKLA MVKLFPRLEE  
 851 MGARMLLQVH DELVLEAPKE RAEAVARLAK EVMEGVYPLA VPLEVEVGIG  
 901 EDWLSAKE



Abbildung 4/1  
SEQ ID No.: 4

## DNA-Sequenz:

```
1 ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51 AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCTCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCCTGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGCG CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCGGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCCCGTT GGATACAGAA TAGTGAAAGA
951 CCTGGTGGAA TTTGAAAAC TCATAGAGAA ACTGAGAGAA TCCCCTTCGT
1001 TCGCCATAGA TCTTGAGACG TCTTCCCTCG ATCCTTTCGA CTGCGACATT
1051 GTCGGTATCT CTGTGTCTTT CAAACCAAAG GAAGCGTACT ACATACCACT
1101 CCATCATAGA AACGCCCAGA ACCTGGATGA AAAAGAAGTT CTGAAAAGC
1151 TAAAGAAAT CCTGGAGGAC CCCGGAGCAA AGATCGTTGG TCAGAAATTG
1201 AAATTCGATT ACAAGGTGTT GATGGTAAAG GGTGTTGAAC CTGTCCCTCC
1251 TCACTTCGAC ACGATGATG CGGCTTACCT TCTTGAGCCG AACGAAAAGA
1301 AGTTCAATCT GGACGATCTC GCATTGAAAT TTCTTGATA CAAAATGACC
1351 TCTTACCAGG AACTCATGTC CTTCTCTTCT CCGCTGTTTG GTTTCAGTTT
1401 TGCCGATGTT CCTGTAGAAA AAGCAGCGAA CTATTCCTGT GAAGATGCAG
1451 ACATCACCTA CAGACTCTAC AAGATCCTGA GCTTAAACT CCACGAGGCA
1501 GATCTGGAGA ACGTGTTCCTA CAAGATAGAA ATGCCTCTTG TGAGCGTGCT
1551 TGCACGGATG GAACTGAACG GTGTGCGCCT GGACGTGGCC TATCTCAGGG
1601 CCTTGTCCTT GGAGGTGGCC GAGGAGATCG CCCGCCTCGA GGCCGAGGTC
1651 TTCCGCTTGG CCGGCCACCC CTTCAACCTC AACTCCCGGG ACCAGCTGGA
1701 AAGGGTCCTC TTTGACGAGC TAGGGCTTCC CGCCATCGGC AAGACGGAGA
1751 AGACCGGCAA GCGCTCTACC AGCGCCGCG TCCTGGAGGC CCTCCGCGAG
1801 GCCCACCCA TCGTGGAGAA GATCCTGCAG TACCGGGAGC TCACCAAGCT
1851 GAAGAGCACC TACATTGACC CCTTGCCGGA CCTCATCCAC CCCAGGACGG
1901 GCCGCCTCCA CACCCGCTTC AACCAGACGG CCACGGCCAC GGGCAGGCTA
1951 AGTAGCTCCG ATCCCAACCT CCAGAACATC CCCGTCCGCA CCCCCTTGG
2001 GCAGAGGATC CGCCGGGCCT TCATCGCCGA GGAGGGGTGG CTATTGGTGG
2051 CCCTGGACTA TAGCCAGATA GAGCTCAGGG TGCTGGCCCA CCTCTCCGGC
2101 GACGAGAACC TGATCCGGGT CTTCAGGAG GGGCGGGACA TCCACACGGA
2151 GACCGCCAGC TGGATGTTTC GCGTCCCCCG GGAGGCCGTG GACCCCTGA
2201 TGCGCCGGGC GGCCAAGACC ATCAACTTCG GGGTCCTCTA CGGCATGTCG
2251 GCCCACC GCC TCTCCAGGA GCTAGCCATC CCTTACGAGG AGGCCAGGC
2301 CTTCAATTGAG CGCTACTTTC AGAGCTTCCC CAAGGTGCGG GCCTGGATTG
2351 AGAAGACCCT GGAGGAGGGC AGGAGGCGGG GGTACGTGGA GACCTCTTC
2401 GGCCGCCGCC GCTACGTGCC AGACCTAGAG GCCCGGGTGA AGAGCGTGCG
2451 GGAGGCGGCC GAGCGCATGG CTTCAACAT GCCCGTCCAG GGCACCGCCG
2501 CCGACCTCAT GAAGCTGGCT ATGGTGAAGC TCTTCCCAG GCTGGAGGAA
```

## Abbildung 4/2

SEQ ID No.: 4

2551 ATGGGGGCCA GGATGCTCCT TCAGGTCCAC GACGAGCTGG TCCTCGAGGC  
 2601 CCCAAAAGAG AGGGCGGAGG CCGTGGCCCG GCTGGCCAAG GAGGTCATGG  
 2651 AGGGGGTGTA TCCCCTGGCC GTCCCCCTGG AGGTGGAGGT GGGGATAGGG  
 2701 GAGGACTGGC TCTCCGCCAA GGAGTGA

SEQ ID NO.: 10

## Aminosäuresequenz:

1 MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL  
 51 TTSRGEPVQA VYGFAKSLLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA  
 101 GRAPTPEDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG  
 151 YEVRILTADK DLYQLLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR  
 201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLLEEWGS LEALLKNLDR LKPAIREKIL  
 251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH  
 301 EFGLESPPV GYRIVKDLVE FEKLIEKLRE SPSFAIDLET SSLDPFDCDI  
 351 VGISVSFKPK EAYYIPLHHR NAQNLDEKEV LKKLKEILED PGAKIVGQNL  
 401 KFDYKVLNVK GVEPVPPHFD TMIAAYLLEP NEKKFNLDDL ALKFLGYKMT  
 451 SYQELMSFSS PLFGFSFADV PVEKAANYSC EDADITYRLY KILSLKLHEA  
 501 DLENVYKIE MPLVSVLARM ELNGVRLDVA YLRALSLEVA EEIARLEAEV  
 551 FRLAGHPFNL NSRDQLERVL FDELGLPAIG KTEKTGKRST SAAVLEALRE  
 601 AHPIVEKILO YRELTKLKST YIDPLPLIH PRTGRLHTRF NQTATATGRL  
 651 SSSDPNLQNI PVRTPLGQRI RRAFIAEEGW LLVALDYSQI ELRVLAHLG  
 701 DENLIRVFQE GRDIHTETAS WMFGVPREAV DPLMRRAAKT INFGVLYGMS  
 751 AHRLSQELAI PYEEAQAFIE RYFQSFPKVR AWIEKTLEEG RRRGYVETLF  
 801 GRRRYVPDLE ARVKSUREAA ERMAFNMPVQ GTAADLMKLA MVKLFPRLEE  
 851 MGARMLLQVH DELVLEAPKE RAEAVARLAK EVMEGVYPLA VPLEVEVGIG  
 901 EDWLSAKE

## Abbildung 5/1

SEQ ID No.: 5

## DNA-Sequenz:

```

1  ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCTCTCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCTGGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCCTCC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCCATCCA GCAGTTGTGG ACATCTTCGA
951 ATACGATATT CCATTTGCAA AGAGATACCT CATCGACAAA GGCCTAATAC
1001 CAATGGAGGG GGAAGAAGAG CTAAAGATTC TTGCCTTCGA TATAGAAACC
1051 CTCTATCACG AAGGAGAAGA GTTTGGAAAA GGCCCAATTA TAATGATTAG
1101 TTATGCAGAT GAAAATGAAG CAAAGGTGAT TACTTGAAA AACATAGATC
1151 TTCCATACGT TGAGGTTGTA TCAAGCGAGA GAGAGATGAT AAAGAGATTT
1201 CTCAGGATTA TCAGGGAGAA GGATCCTGAC ATTATAGTTA CTTATAATGG
1251 AGACTCATT GACTTCCCAT ATTTAGCGAA AAGGGCAGAA AAACCTGGGA
1301 TTAAATTAAC CATTGGAAGA GATGGAAGCG AGCCCAAGAT GCAGAGAATA
1351 GGCGATATGA CGGCTGTAGA AGTCAAGGGA AGAATACATT TCGACTTGTA
1401 TCATGTAATA ACAAGGACAA TAAATCTCCC AACATACACA CTAGAGGCTG
1451 TATATGAAGC AATTTTTGGA AAGCCAAAGG AGAAGGTATA CGCCGACGAG
1501 ATAGCAAAG CCTGGGAAAG TGGAGAGAAC CTTGAGAGAG TTGCCAAATA
1551 CTCGATGGAA GATGCAAAGG CAACTTATGA ACTCGGAAA GAATTCCTTC
1601 CAATGGAAAT TCAGCTTTCA GAGAGGCTCC TTTGGCTTTA CCGGGAGGTG
1651 GAGAGGCCCC TTTCCGCTGT CCTGGCCAC ATGGAGGCCA CGGGGGTGCG
1701 CCTGGACGTG GCCTATCTCA GGGCCTTGTC CCTGGAGGTG GCGGAGGAGA
1751 TCGCCCGCCT CGAGGCCGAG GTCTTCCGCC TGGCCGGCCA CCCCTCAAC
1801 CTCAACTCCC GGGACCAGCT GGAAAGGGTC CTCTTTGACG AGCTAGGGCT
1851 TCCCGCCATC GGCAAGACGG AGAAGACCGG CAAGCGCTCC ACCAGCGCCG
1901 CCGTCCTGGA GGCCCTCCGC GAGGCCACC CCATCGTGGA GAAGATCCTG
1951 CAGTACCGGG AGCTACCAA GCTGAAGAGC ACCTACATTG ACCCCTTGCC
2001 GGACCTCATC CACCCAGGA CGGGCCGCCT CCACACCCGC TTCAACCAGA
2051 CGGCCACGGC CACGGGCAGG CTAAGTAGCT CCGATCCCAA CCTCCAGAAC
2101 ATCCCCGTCC GCACCCCGCT TGGGCAGAGG ATCCGCCGGG CCTTCATCGC
2151 CGAGGAGGGG TGGCTATTGG TGGCCCTGGA CTATAGCCAG ATAGAGCTCA
2201 GGGTGCTGGC CCACCTCTCC GGCGACGAGA ACCTGATCCG GGTCTTCCAG
2251 GAGGGGCGGG ACATCCACAC GGAGACCGCC AGCTGGATGT TCGGCGTCCC
2301 CCGGGAGGCC GTGGACCCCC GTATGCGCCG GGCGCCAAG ACCATCAACT
2351 TCGGGGTCTC CTACGGCATG TCGGCCACC GCCTCTCCA GGAGCTAGCC
2401 ATCCCTTACG AGGAGGCCCA GGCCTTCATT GAGCGCTACT TTCAGAGCTT
2451 CCCCAAGGTG CGGGCCTGGA TTGAGAAGAC CCTGGAGGAG GGCAGGAGGC
2501 GGGGGTACGT GGAGACCCTC TTCGGCCGCC GCCGCTACGT GCCAGACCTA

```

## Abbildung 5/2

SEQ ID No.: 5

2551	GAGGCCCGGG	TGAAGAGCGT	GCGGGAGGCG	GCCGAGCGCA	TGGCCTTCAA
2601	CATGCCCGTC	CAGGGCACCG	CCGCCGACCT	CATGAAGCTG	GCTATGGTGA
2651	AGCTCTTCCC	CAGGCTGGAG	GAAATGGGGG	CCAGGATGCT	CCTTCAGGTC
2701	CACGACGAGC	TGGTCTCGA	GGCCCCAAAA	GAGAGGGCGG	AGGCCGTGGC
2751	CCGGCTGGCC	AAGGAGGTCA	TGGAGGGGGT	GTATCCCCTG	GCCGTGCCCC
2801	TGGAGGTGGA	GGTGGGGATA	GGGAGGACT	GGCTCTCCGC	CAAGGAGTGA

SEQ ID No.: 11

## Aminosäuresequenz:

1	MRGSHHHHHH	AADDDDKMRG	MLPLFEPKGR	VLLVDGHHLA	YRTFHALKGL
51	TTSRGEVPQA	VYGFAKSLK	ALKEDGDAVI	VVFDAKAPSF	RHEAYGGYKA
101	GRAPTPEDFP	RQLALIKELV	DLLGLARLEV	PGYEADDVLA	SLAKKAEKEG
151	YEVRI LTADK	DLYQLLSDRI	HVLHPEGYLI	TPAWLWEKYG	LRPDQWADYR
201	ALTGDESDNL	PGVKGIGECT	ARKLLEWGS	LEALLKNLDR	LKPAIREKIL
251	AHMDDLKLSW	DLAKVRTDLP	LEVDFAKRRE	PDRERLRAFL	ERLEFGSLLH
301	EFGLLESPHP	AVVDIFEYDI	PFAKRYLIDK	GLIPMEGEEE	LKILAFDIET
351	LYHEGEEFGK	GPIIMISYAD	ENEAKVITWK	NIDLPHYVEVV	SSEREMIKRF
401	LRIIREKDPD	IIVTYNGDSF	DFPYLAKRAE	KLGIKLTIGR	DGSEPKMORI
451	GDMTAVEVKG	RIHEDLYHVI	TRTINLPTYT	LEAVYEAIFG	KPKEKVYADE
501	IAKAWESGEN	LERVAKYSME	DAKATYELGK	EFLPMEIQLS	ERLLWLYREV
551	ERPLSAVLAH	MEATGVRLDV	AYLRALSLEV	AEEIARLEAE	VFRLAGHPFN
601	LNSRDQLERV	LFDELGLPAI	GKTEKTGKRS	TSAAVLEALR	EAHPIVEKIL
651	QYRELTKLKS	TYIDPLPDLI	HPRTGRLHTR	FNQTATATGR	LSSSDPNLQN
701	IPVRTPLGQR	IRRAFIAEEG	WLLVALDYSQ	IELRVLAHLS	GDENLIRVFO
751	EGRDIHTETA	SWMFGVPREA	VDPLMRRRAK	TINFGVLYGM	SAHRLSQELA
801	IPYEEAQAFI	ERYFQSFPKV	RAWIEKTLEE	GRRRGYVETL	FGRRRYVPDL
851	EARVKSVREA	AERMAFNMPV	QGTAADLMKL	AMVKLFPRLE	EMGARMLLQV
901	HDELVLAPK	ERAEAVARLA	KEVMEGVYPL	AVPLEVEVGI	GEDWLSAKE*

**Abbildung 6/1**  
**SEQ ID No.: 6**

**DNA-Sequenz:**

```

1   ATGAGGGGCT CGCATCACCA TCACCATCAC GCTGCTGACG ATGACGATAA
51  AATGAGGGGC ATGCTACCGC TATTTGAGCC CAAGGGCCGG GTCCCTCCTGG
101 TCGACGGCCA CCACCTGGCC TACCGCACCT TCCACGCCCT GAAGGGCCTC
151 ACCACCAGCC GGGGGGAGCC GGTGCAGGCG GTCTACGGCT TCGCCAAGAG
201 CCTCCTCAAG GCCCTCAAGG AGGACGGGGA CGCGGTGATC GTGGTCTTTG
251 ACGCCAAGGC CCCCTCCTTC CGCCACGAGG CCTACGGGGG GTACAAGGCG
301 GGCCGGGCCC CCACGCCGGA GGACTTTCCC CGGCAACTCG CCTCATCAA
351 GGAGCTGGTG GACCTCCTGG GGCTGGCGCG CCTCGAGGTC CCGGGCTACG
401 AGGCGGACGA CGTCTGGGCC AGCCTGGCCA AGAAGGCGGA AAAGGAGGGC
451 TACGAGGTCC GCATCCTCAC CGCCGACAAA GACCTTTACC AGCTCCTTTC
501 CGACCGCATC CACGTCTCTC ACCCCGAGGG GTACCTCATC ACCCCGGCCT
551 GGCTTTGGGA AAAGTACGGC CTGAGGCCCG ACCAGTGGGC CGACTACCGG
601 GCCCTGACCG GGGACGAGTC CGACAACCTT CCCGGGGTCA AGGGCATCGG
651 GGAGAAGACG GCGAGGAAGC TTCTGGAGGA GTGGGGGAGC CTGGAAGCCC
701 TCCTCAAGAA CCTGGACCGG CTGAAGCCCG CCATCCGGGA GAAGATCCTG
751 GCCCACATGG ACGATCTGAA GCTCTCCTGG GACCTGGCCA AGGTGCGCAC
801 CGACCTGCCC CTGGAGGTGG ACTTCGCCAA AAGGCGGGAG CCCGACCGGG
851 AGAGGCTTAG GGCCTTTCTG GAGAGGCTTG AGTTTGGCAG CCTCCTCCAC
901 GAGTTCGGCC TTCTGGAAAG CCCC GTTAGA GAACATCCAG CAGTTGTGGA
951 CATCTTCGAA TACGATATTC CATTTGCAAA GAGATACCTC ATCGACAAAG
1001 GCCTAATACC AATGGAGGGG GAAGAAGAGC TAAAGATTCT TGCCTTCGAT
1051 ATAGAAACCC TCTATCACGA AGGAGAAGAG TTTGGAAAAG GCCCAATTAT
1101 AATGATTAGT TATGCAGATG AAAATGAAGC AAAGGTGATT ACTTGAAAAA
1151 ACATAGATCT TCCATACGTT GAGGTTGTAT CAAGCGAGAG AGAGATGATA
1201 AAGAGATTTC TCAGGATTAT CAGGGAGAAG GATCCTGACA TTATAGTTAC
1251 TTATAATGGA GACTCATTCG ACTTCCCATA TTTAGCGAAA AGGGCAGAAA
1301 AACTTGGGAT TAAATTAACC ATTGGAAGAG ATGGAAGCGA GCCCAAGATG
1351 CAGAGAATAG GCGATATGAC GGCTGTAGAA GTCAAGGGAA GAATACATTT
1401 CGACTTGAT CATGTAATAA CAAGGACAAT AAATCTCCCA ACATACACAC
1451 TAGAGGCTGT ATATGAAGCA ATTTTTGGAA AGCCAAAGGA GAAGGTATAC
1501 GCCGACGAGA TAGCAAAAGC CTGGGAAAGT GGAGAGAACC TTGAGAGAGT
1551 TGCCAAATAC TCGATGGAAG ATGCAAAGGC AACTTATGAA CTCGGGAAAG
1601 AATTCCTTCC AATGGAAATT CAGCTTTCAA GATTAGTTGG ACAACCTTTA
1651 TGGGATGTTT CAAGGTCAAG CACAGGGAAC CTTGTAGAGT GGTTCTTACT
1701 TAGGAAAGCC TACGAAAGAA ACGAAGTAGC TCCAAACAAG CCAAGTGAAG
1751 AGGAGTATCA AAGAAGGCTC AGGGAGAGCT ACACAGGTGG ATTCTGTGCG
1801 CTGGACGTGG CCTATCTCAG GGCCTTGTCC CTGGAGGTGG CCGAGGAGAT
1851 CGCCCGCCTC GAGGCCGAGG TCTTCCGCCT GGCCGGCCAC CCCTTCAACC
1901 TCAACTCCCG GGACCAGCTG GAAAGGGTCC TCTTTGACGA GCTAGGGCTT
1951 CCCGCCATCG GCAAGACGGA GAAGACCGGC AAGCGCTCCA CCAGCGCCGC
2001 CGTCCTGGAG GCCCTCCGCG AGGCCACCC CATCGTGGAG AAGATCCTGC
2051 AGTACCGGGA GCTCACCAG CTGAAGAGCA CCTACATTGA CCCCTTGCCG
2101 GACCTCATCC ACCCCAGGAC GGGCCGCCTC CACACCCGCT TCAACCAGAC
2151 GGCCACGGCC ACGGGCAGGC TAAGTAGCTC CGATCCCAAC CTCCAGAACA
2201 TCCCCGTCCG CACCCCGCTT GGGCAGAGGA TCCGCCGGGC CTTTCATCGCC
2251 GAGGAGGGGT GGCTATTGGT GGCCCTGGAC TATAGCCAGA TAGAGCTCAG
2301 GGTGCTGGCC CACCTCTCCG GCGACGAGAA CCTGATCCGG GTCTTCCAGG
2351 AGGGGCGGGA CATCCACACG GAGACCGCCA GCTGGATGTT CGGCGTCCCC
2401 CGGGAGGCCG TGGACCCCTT GATGCGCCGG GCGGCCAAGA CCATCAACTT
2451 CGGGGTCTCT TACGGCATGT CGGCCACCG CCTCTCCAG GAGCTAGCCA
2501 TCCCTTACGA GGAGGCCAG GCCTTCATTG AGCGCTACTT TCAGAGCTTC

```

## Abbildung 6/2

SEQ ID No.: 6

```

2551 CCCAAGGTGC GGGCCTGGAT TGAGAAGACC CTGGAGGAGG GCAGGAGGCG
2601 GGGGTACGTG GAGACCCTCT TCGGCCGCCG CCGCTACGTG CCAGACCTAG
2651 AGGCCCCGGT GAAGAGCGTG CGGGAGGCGG CCGAGCGCAT GGCCTTCAAC
2701 ATGCCCCGTCC AGGGCACCGC CGCCGACCTC ATGAAGCTGG CTATGGTGAA
2751 GCTCTTCCCC AGGCTGGAGG AAATGGGGGC CAGGATGCTC CTTCAGGTCC
2801 ACGACGAGCT GGTCTCGAG GCCCAAAG AGAGGGCGGA GGCCGTGGCC
2851 CGGCTGGCCA AGGAGGTCAT GGAGGGGGTG TATCCCCTGG CCGTGCCCTT
2901 GGAGGTGGAG GTGGGGATAG GGGAGGACTG GCTCTCCGCC AAGGAGTGA

```

SEQ ID No.: 12

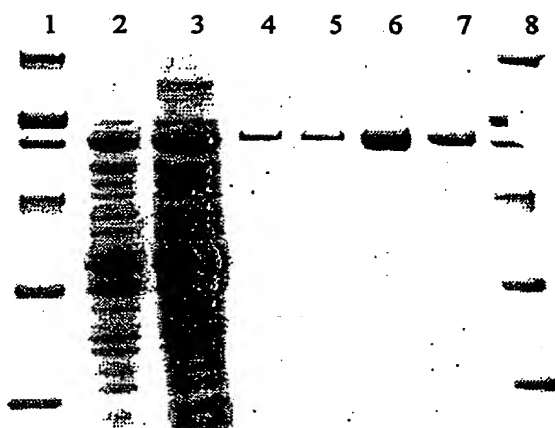
## Aminosäuresequenz:

```

1  MRGSHHHHHH AADDDDKMRG MLPLFEPKGR VLLVDGHHLA YRTFHALKGL
51  TTSRGEVPQA VYGFAXSLK ALKEDGDAVI VVFDKAPSF RHEAYGGYKA
101 GRAPTEPDFP RQLALIKELV DLLGLARLEV PGYEADDVLA SLAKKAEKEG
151 YEVRIITADK DLYQLSDRI HVLHPEGYLI TPAWLWEKYG LRPDQWADYR
201 ALTGDESDNL PGVKGIGECT ARKLLEWGS LEALLKNLDR LKPAIRKIL
251 AHMDDLKLSW DLAKVRTDLP LEVDFAKRRE PDRERLRAFL ERLEFGSLLH
301 EFGLLESPVR EHPAVVDIFE YDIPFAKRYL IDKGLIPMEG EEELKILAFD
351 IETLYHEGEE FGKGPIMIS YADENEAKVI TWKNIDLPHY EVVSSSEREMI
401 KRFLRIIREK DFDIIVTYNG DSFDFFPYLAK RAEKLGIKLT IGRDGSSEPKM
451 ORIGDMTAVE VKGRIHFDLY HVITRTINLP TYTLEAVYEA IFGKPKEKVV
501 ADEIAKAWES GENLERVAKY SMEDAKATYE LGKEFLPMEI QLSRLVGCPL
551 WDVSRSSSTGN LVEWFLLRKA YERNEVAPNK PSEEEYQRRR RESYTGGFVR
601 LDVAYLRALS LEVAEEIARL EAEVFERLAGH PFNLNSRDQL ERVLFDELGL
651 PAIGKTEKTG KRSTSAAVLE ALREAHPIVE KILQYRELTK LKSTYIDPLP
701 DLIHPRTGRL HTRFNQTATA TGRLSSTDPN LQNIPTVTPPL GQIRRAFIA
751 EEWLLVALD YSQIELRVLA HLSGDENLIR VFQEGRDIHT ETASWMFGVP
801 REAVDPLMRR AAKTINFGVL YGMSAHLRSQ ELAIPYEEAQ AFIERYFQSF
851 PKVRAWIEKT LEEGRRRGYV ETLFGRRRYV PDLEARVKSV REAAERMAFN
901 MPVQGTAAADL MKLAMVKLFP RLEEMGARML LQVHDELVL EAPKERAEEVA
951 RLAKEVMEGV YPLAVPLEVE VGIGEDWLSA KE*

```

**Abbildung 7**



**Abbildung 8**

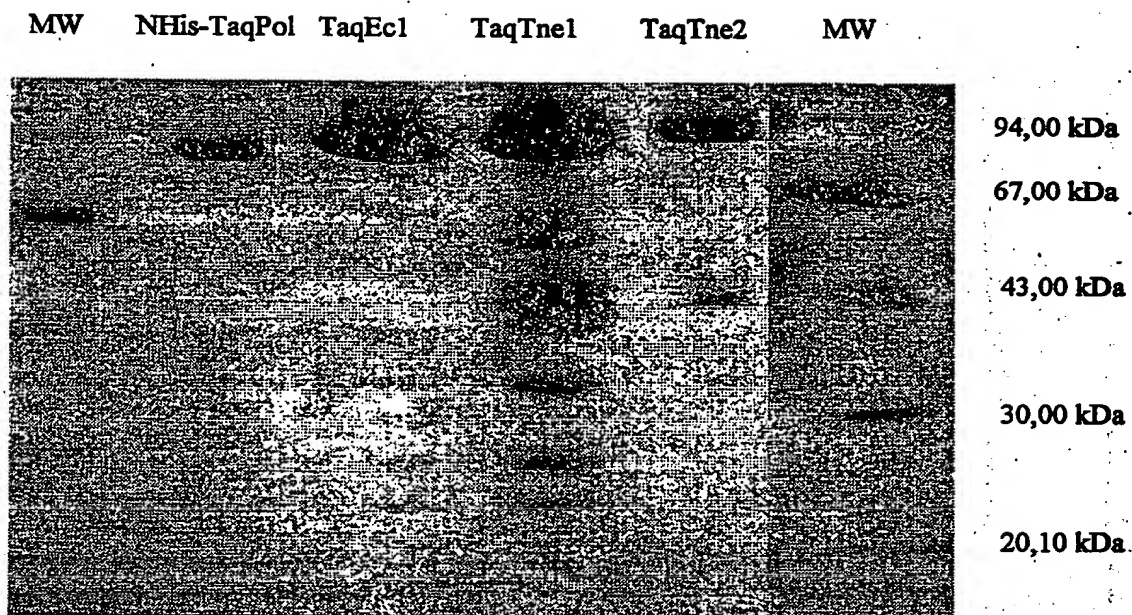




Abbildung 9

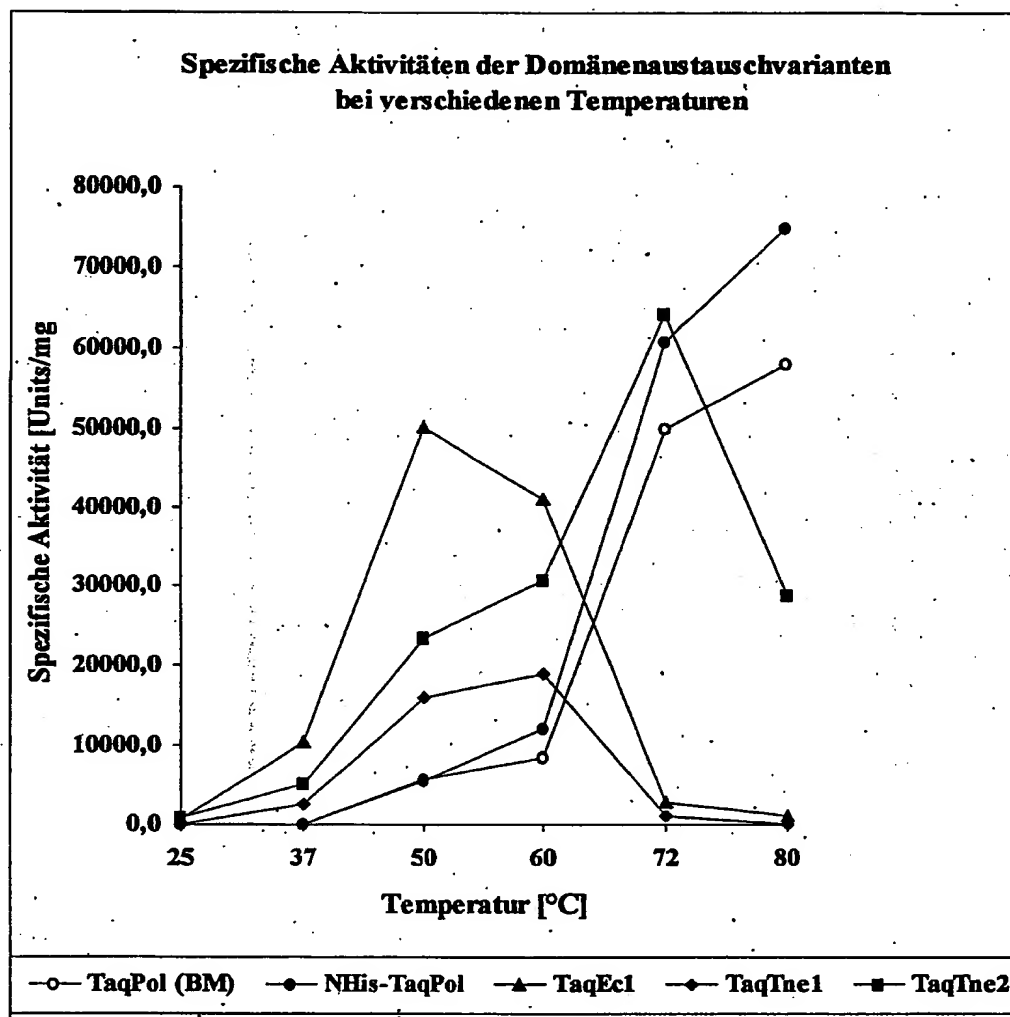


Abbildung 10

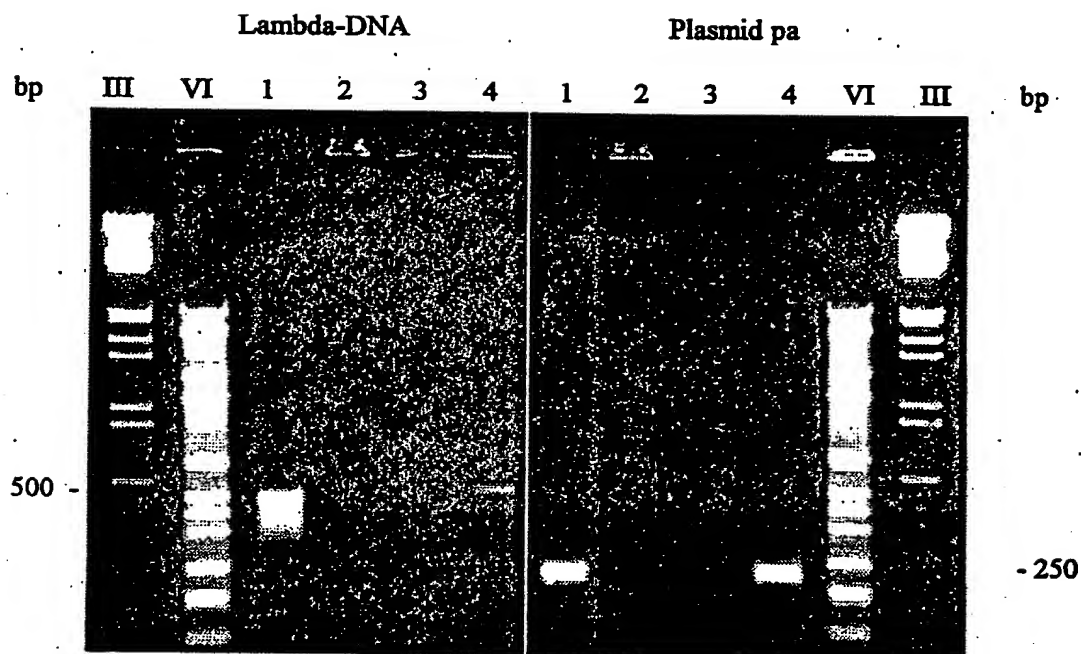
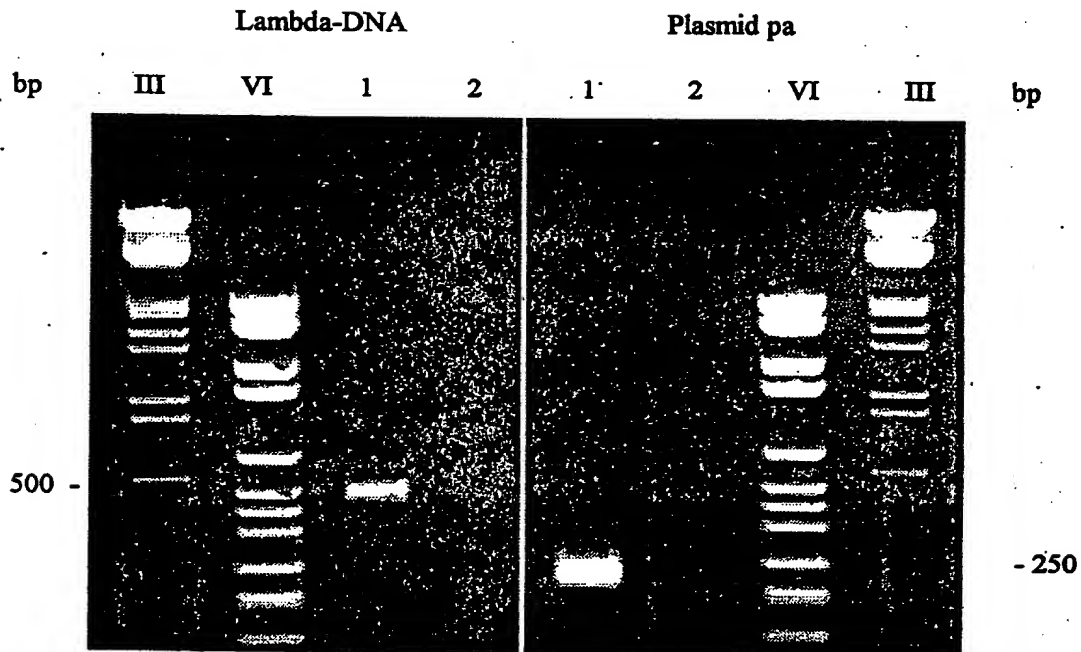
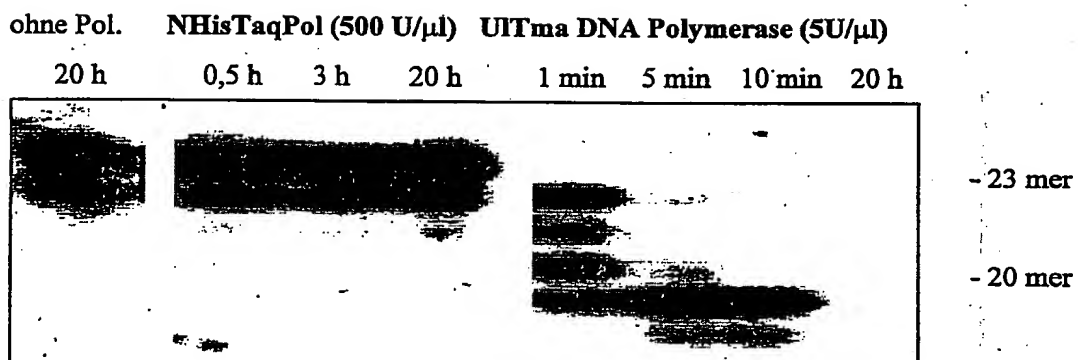


Abbildung 11



**Abbildung 12**



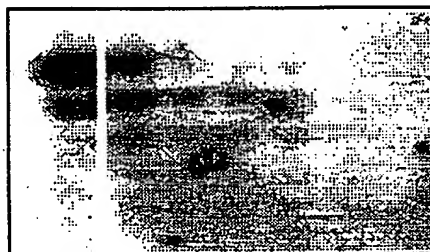
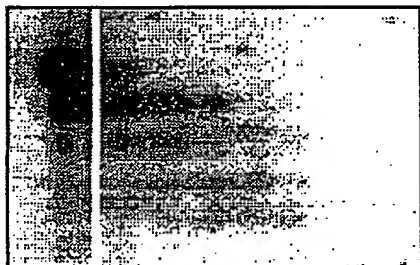
**Abbildung 13**

**ohne Pol. TaqEc1 (500 U/μl)**

**ohne Pol. TaqEc1 (500 U/μl)**

600 15 30 45 60 90 180 600 min

600 15 30 45 60 90 180 600 min



- 23 mer

- 20 mer

Abbildung 14

M1/P1 M1/P1 M1/P2 M1/P3

- + - + - +

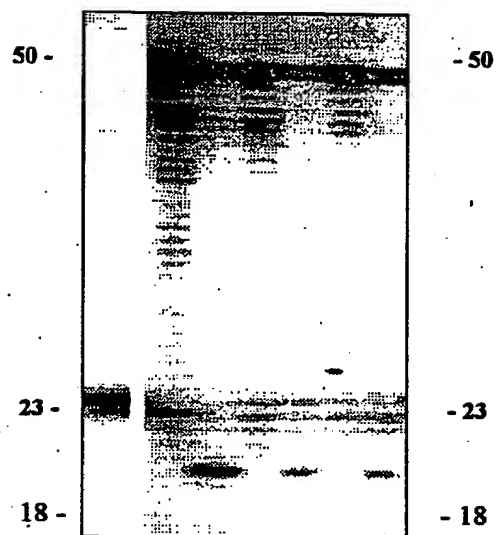


Abbildung 15

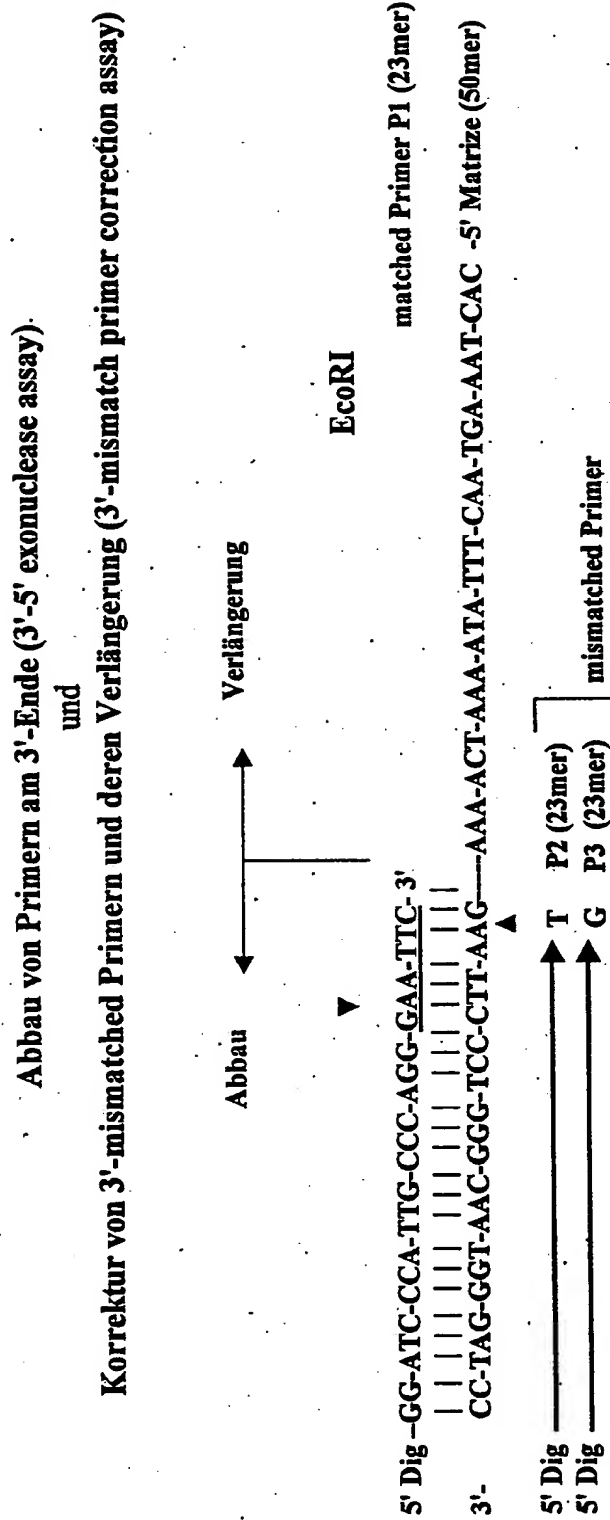


Abbildung 16

